

UNTERSUCHUNG ÜBER ANTIKÖRPERBILDUNGEN
BEI POLYTRANSFUNDIERTEN PATIENTEN

CAROLA RIEDNER

1987

Disbui. München

1987

Aus der medizinischen Klinik III Klinikum Großhadern
der Universität München

Vorstand: Professor Dr. W. Wilmanns

Transfusionszentrum Med. III / BSD - BRK

Leiter: Professor Dr. W. Mempel

UNTERSUCHUNG ÜBER ANTIKÖRPERBILDUNGEN

BEI POLYTRANSFUNDIERTEN PATIENTEN

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Carola Riedner

aus

München

Jahr

1987

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. W. Mempel

Mitberichterstatter: Prof. Dr. W. Wilmanns

Prof. Dr. R. J. Haas

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. Marcel Heim

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen

Prüfung: 17. 12. 1987

Lebenslauf

1. Personendaten

1.1. Name, Geburtsdatum, Geburtsort

Gewidmet

1.2. Familienname

1.3. Geburtsdatum

1.4. Geburtsort

meinen lieben Eltern

1.5. Trauungsdatum und -ort

in Dankbarkeit

1.6.1. Kl. für treue Unterstützung

auf meinem Lebensweg

1.6.2. Mitgliedschaften und Funktionen

1.6.3. Auszeichnungen

1.6.4. Familienstand, Ehepartner, Kinder

1.6.5. Beruf

1.7. Militärische Dienstleistungen

2. Berufliche Laufbahn und Ausbildung

2.1. Ausbildung und Berufsweg

2.2. Berufsträger und Vorgesetzte

2.3. Berufsweg

2.4.1. Dienstleistungen nach Krieg (1945)

2.4.2. Dienstleistungen nach Krieg (1945)

2.4.3. Dienstleistungen nach Krieg (1945)

Inhaltsübersicht

1. Einleitung
 - 1.1 Haematologische Grundbegriffe
 - 1.1.1 Antigensysteme
 - 1.1.2 Antikörperbildung
 - 1.1.3 Resistenz
 - 1.2 Therapeutische Ansätze und Probleme
 - 1.2.1 Klinische Bedeutung der Alloimmunisierung
 - 1.2.2 Möglichkeiten zur Verhütung von Alloimmunisierungen
 - 1.2.3 Vorgehen bei bestehender Alloimmunisierung
 - 1.3 Mögliche Testverfahren
2. Problemstellung und Zielsetzung
3. Patientengut und Methoden
 - 3.1 Patientengut und Testprobanden
 - 3.2 Methoden
 - 3.2.1 Zweistufentest nach Terasaki (LCT)
 - 3.2.2 Plättchen-Immun-Fluoreszenz-Test (PIFT)

- 4. Ergebnisse
 - 4.1 LCT- und PIFT-Ergebnisse
 - 4.2 Positive Reaktionen im Zusammenhang mit der Transfusionsfrequenz
 - 4.3 Positive Reaktionen im Zusammenhang mit Transfusionen von gefilterten EK
 - 4.4 Positive Reaktionen im Zusammenhang mit Immunsuppressiva
 - 4.5 Positive Reaktionen im Zusammenhang mit Krankheitsbildern
 - 4.6 Vergleich von LCT und PIFT
 - 4.7 Einzelfalldarstellungen
- 5. Diskussion
 - 5.1 Antikörpernachweis in Abhängigkeit von Anzahl bzw. Art der Transfusionen
 - 5.2 Antikörpernachweis in Abhängigkeit von Immunsuppressiva bzw. Krankheitsbildern
 - 5.3 Vergleich und Bedeutung der verwendeten Tests
- 6. Zusammenfassung
- 7. Literaturverzeichnis
- 8. Lebenslauf

1. Einleitung

Bluttransfusionen haben eine zunehmende therapeutische Bedeutung gewonnen und sind insbesondere bei großen Blutverlusten oft lebensrettend.

Lange Zeit ist nur Vollblut verabreicht worden.

Im Verlauf der letzten Jahre wird zunehmend von der Komponententherapie Gebrauch gemacht, insbesondere von Erythrozyten-Konzentraten (EK), fresh-frozen Plasma (FFP) und Thrombozyten-Konzentraten (TK).

Seit den ersten Versuchen zur Behandlung thrombozytopenischer Krankheitszustände mit Substitution von lebensfrischen Blutplättchen durch DUKE Anfang dieses Jahrhunderts (13) ist die Thrombozytentransfusion vor allem in den letzten zehn Jahren zu einer oft lebensrettenden therapeutischen Maßnahme geworden.

Die Fortschritte auf dem Gebiet derartiger Ersatztherapien beruhen vor allem auf technischen Neuerungen, wie die Einführung von Kunststoffbeutelssystemen, die eine Blutfraktionierung im sterilen, geschlossenen System erlauben, und die Entwicklung von Zellseparationszentrifugen zur Gewinnung größerer Zellmengen von einzelnen Blutspendern.

Ein bis heute nur im Ansatz gelöstes Problem stellt allerdings die zunehmende Resistenzentwicklung gegen Zelltransfusionen bei denjenigen Patienten dar, die auf eine Langzeittherapie mit Fremdzellen angewiesen sind.

Diese Alloimmunisierung beruht im wesentlichen auf in der Regel fehlenden Histokompatibilität zwischen Empfänger und Spender.

1.1 Haematologische Grundbegriffe

Im Hinblick auf die für Bluttransfusionen zu beschreibenden diagnostischen und therapeutischen Probleme und deren Lösungsansätze sind zunächst die wichtigsten haematologischen Grundbegriffe dargestellt.

Im ersten Teilabschnitt sind die Antigensysteme, im zweiten Teilabschnitt die Antikörperbildungen und im dritten ist der Begriff der Resistenz beschrieben.

1.1.1 Antigensysteme

Am bekanntesten sind die ABO Blutgruppen, die für die Thrombozytentransfusionen ohne Bedeutung zu sein scheinen und hier nicht näher beschrieben sind (37).

Das Haupthistokompatibilitätssystem des Menschen stellt das HLA-System dar (35). Es wird über den kurzen Arm des Chromosoms 6 weitergegeben.

Die Genprodukte der vier Loci HLA-A, B, C und DR können mit der serologischen Methode, dem Lymphozytotoxizitätstest (LCT), routinemäßig bestimmt werden (TERASAKI-Test, 59 und 60).

Bekannt sind derzeit 23 HLA-A, 49 HLA-B, 8 HLA-C und 16 HLA-DR-Merkmale (2). Die HLA-D, -DQ und DP Merkmale haben in der Transfusionsmedizin noch keine Bedeutung gewonnen.

Die HLA-Merkmale werden autosomal-dominant weitergegeben, und zwar werden sie in der Regel en bloc vererbt.

Zwischen einigen dieser vier Allelen liegt ein starkes Kopplungsungleichgewicht vor, d.h. daß einige Allelpaaire häufiger vorkommen und andere seltener als dies dem Produkt der jeweiligen Genfrequenzen entspricht.

Ein weiteres bedeutsames Merkmal des HLA-Systems besteht in der Bildung von Kreuzgruppen, d.h. daß es zu jedem Loci verschiedene Allele gibt, die in bezug auf eine Antikörperbildung nicht nur den jeweils homologen Antikörper bilden, sondern gleichzeitig auch Antikörper zu allen ihrer Kreuzgruppe angehörenden Allelen.

Die HLA-Antigene des A- und des B-Locus (wahrscheinlich auch des C-Locus) sind - mit Ausnahme des Antigene B 8 und B 12 - auf Thrombozyten mit gleicher Frequenz wie auf Lymphozyten nachweisbar (37).

Aufgrund der multiplen Allelie weist das HLA-System einen Polymorphismus auf, wie er von keinem anderen Erbmerkmals-system des Menschen bekannt ist.

Außerdem gibt es noch ein vom HLA-System unabhängiges System "5a - 5b". Die beiden Merkmale dieses Systems werden über zwei autosomale Allele mit kodominantem Erbgang gesteuert (36).

Neben den auf allen Körperzellen vorkommenden ABO-, HLA- und 5a-5b-Systemen gibt es zusätzlich zellspezifische Antigene.

Bei den leukozytären Antigenen werden granulozyten- und lymphozyten-spezifische Antigene unterschieden. Ihr Erbgang ist ebenfalls autosomal-dominant, aber sie dürften von geringerer praktischer Bedeutung sein.

Bei den thrombozyten-spezifischen Antigenen sind drei Systeme bekannt, das von VAN LOGHEM definierte Zw-System, das VAN DER WEERT-sche Ko-System und das PIE-System nach SHULMAN.



1.1.2 Antikörperbildung

Nach Abschluß der "sensiblen Phase" besitzt jeder Mensch die Eigenschaft, in bezug auf seine Blutzellen körpereigene von fremden genau zu unterscheiden.

Bei Fremdbluttransfusionen werden im Empfänger die Blutzellen des Spenders als fremd erkannt und dagegen Antikörper gebildet.

Die Antikörperbildung vollzieht sich nach dem "Schlüssel-Schloß-Prinzip".

Als "Schloß" sind die an den Oberflächen der Blutzellen befindlichen makromolekularen Strukturen, also die jeweiligen Antigene, wirksam.

Homolog zu den Antigen-Strukturen entwickeln sich makromolekulare Immunglobuline.

Grundsätzlich sind daher zu jedem der Antigen-Systeme entsprechende Antikörper bekannt, also zu den drei Systemgruppen der an allen Zellen vorkommenden Antigene und zu den zellspezifischen Antigen-Gruppen.

1.1.3 Resistenz

Der Begriff der Resistenzentwicklung bei Bluttransfusionen beruht auf der zellzerstörenden Wirkung der Antikörper.

Haben sich nämlich Antikörper im Empfänger gebildet, so können diese die therapeutische Wirkung weiterer Transfusionen verhindern.

Neben diesem Resistenzbegriff im engeren Sinne, also einer Immunisierung des Patienten gegen Antigene der übertragenen Blutzellen, gibt es auch einen weitergefaßten Begriff der Resistenz.

So sind zum Beispiel bei Thrombozytentransfusionen für eine Resistenz im weiteren Sinne oft zusätzliche empfängerbedingte Störungen (z.B. erhöhter Umsatz von Thrombozyten bei Verbrauchskoagulopathie, lavierten Thrombosen, Fieber, Sepsis, Autoantikörper u.a.), spenderseitige Defekte (Plättchenfunktionsstörungen durch Krankheiten oder Medikamente) und Herstellungsmodalitäten (zu lange Lagerung, Abnahmefehler, unzureichende Präparation u.a.) verantwortlich (37).

1.2 Therapeutische Ansätze und Probleme

Bei Langzeit-Blutersatztherapien ist die alleinige Berücksichtigung der Erythrozytenantigene des ABO-, Rh- und ggf. des Kell-Systems nicht hinreichend, da vor allem das HLA-System für Alloimmunisierungen und Transfusionsreaktionen verantwortlich erscheint.

Im ersten Teilabschnitt ist daher die klinische Bedeutung der Alloimmunisierung dargestellt.

Im zweiten Teilabschnitt sind Möglichkeiten zu deren Verhütung und im dritten sind therapeutische Lösungsansätze beschrieben.

1.2.1 Klinische Bedeutung der Alloimmunisierung

Die häufigsten Transfusionszwischenfälle beruhen auf febrilen Reaktionen bis zum schweren Schüttelfrost und können dadurch hervorgerufen werden, daß der Empfänger Antikörper gegen die Merkmale an Leukozyten und/oder Monozyten des Spenders aufweist.

Diese Antikörper sind zumeist gegen HLA-A, B- oder C-spezifitäten gerichtet, in seltenen Fällen gegen Merkmale des Systems 5a - 5b, sowie gegen granulozytenspezifische Antigene oder vielleicht auch gegen HLA-DR-Antigene an Monozyten (17 und 36).

Neben derartigen Transfusionsreaktionen beweisen zahlreiche Studien, daß HLA-A- und -B-Antikörper die Überlebenszeit von inkompatiblen Thrombozyten beträchtlich verkürzen und so große Probleme bei der Thrombozyten-Ersatztherapie darstellen.

C- und DR-Antikörper sind dabei offensichtlich ohne Bedeutung (17).

Die Beobachtung, daß sich Patienten mit einer kompletten Resistenz gegen unausgewählte Thrombozytentransfusionen durch Verwendung HLA-identischer Thrombozyten von verwandten, aber auch von nicht-verwandten Spendern oft wieder erfolgreich substituieren lassen, ist inzwischen vielfach bestätigt worden (37 und 66).

Nach neueren Untersuchungen konnten neben HLA-Antikörpern auch blutzellspezifische Antikörper (z.B. thrombozytenspezifische) im Serum von alloimmunisierten Patienten nachgewiesen werden (10, 45 und 63).

Ob HLA-Antikörper bei Granulozytentransfusionen eine Rolle spielen, ist viel schwieriger zu beantworten, obwohl man HLA-A-, -B- und -C-Antigene auf Granulözyten nachweisen kann.

Es gibt nämlich noch keine befriedigende Methode, mit der die Granulozyten-Überlebenszeit und der Abbau von Granulozyten durch HLA-Antikörper gemessen werden kann.

1.2.2 Möglichkeiten zur Verhütung von Alloimmunisierungen

Bei Bluttransfusionen ist Vollblut nach Möglichkeit zu vermeiden. In bestimmten Situationen (z.B. hoher Blutverlust mit Gerinnungsstörung) kann die Gabe von Frischblut erforderlich sein.

Ein Erythrozytenmangel sollte durch leukozytenarme Erythrozytenkonzentrate (buffy-coat-arm, gewaschen, gefiltert oder gefroren) ausgeglichen werden.

Obwohl auch diese Präparate je nach Herstellungsverfahren nicht vollständig frei von Leukozyten oder Thrombozyten sind, ist die durch sie bedingte Immunisierungsrate deutlich geringer, und nachweisbare Antikörper lassen im Titer nach (24).

Demgegenüber konnte in einer anderen Untersuchung gezeigt werden, daß zwar buffy-coat-freie EK keinen Schutz vor einer Sensibilisierung gewährleisten, jedoch leukozyten- und thrombozytenreduzierte und gefilterte EK kaum ausreichen, um eine nachweisbare Sensibilisierung zu erzeugen (51).

Eine Alloimmunisierung könnte durch Verwendung tiefgefrorener autologer Thrombozyten zwar verhindert werden, sie dürfte aber aus klinischen und technischen Gründen auf ausgewählte Fälle und wenige Zentren beschränkt bleiben.

Bei der Applikation von allologen Thrombozyten wäre es wünschenswert, wenn mit einer längerfristigen Substitution gerechnet werden muß, wie zum Beispiel bei Knochenmarkaplasien oder Leukämien mit aussichtsreicher Therapiechance, daß so früh wie möglich HLA-kompatible Thrombozyten gegeben werden könnten (10).

Demgegenüber wird in anderen Untersuchungen auch der folgende Standpunkt vertreten: HLA-kompatible Thrombozytentransfusionen sind danach nicht gleich von Anfang an zu verabreichen, sondern erst beim Übergang zu einem Refraktärstadium (41 und 50).

1.2.3 Vorgehen bei bestehender Alloimmunisierung

Trotz der heute bereits möglichen Vorsorge bei Bluttransfusionen haben bisherige Untersuchungen immer wieder gezeigt, daß mit zunehmender Anzahl von transfundierten Blutkomponenten Alloimmunisierungen auftreten.

Bei Langzeitsubstitutionen kann daher vor Beginn eine HLA-Typisierung des Empfängers durchgeführt werden.

Das Hauptproblem besteht aufgrund des enormen HLA-Polymorphismus aber gerade darin, für einen typisierten Empfänger HLA-A, -B, -C identische oder kompatible Spender zu finden.

Zur Lösung dieses Problems bieten sich mehrere Möglichkeiten an:

Wegen der außerordentlichen Komplexität des HLA-Systems sind HLA-identische Spender unter Verwandten wesentlich häufiger zu finden als bei Nicht-Verwandten. Insbesondere bei Geschwistern beträgt die HLA-A, -B, -C-Identität mindestens 25%.

Als weitere bedeutsame praktikable Möglichkeit gibt es heute bereits Blutzentren, die eine relativ große Anzahl typisierter Spender registriert haben.

Obwohl der finanzielle Aufwand für die Typisierung der Spender erheblich ist, wird die Registrierung einer großen Anzahl getesteter Spender gefordert (15).

Außerdem läßt sich der HLA-A, -B, -C-Polymorphismus einschränken durch Vernachlässigung der HLA-C Antigene für die Thrombozytensubstitution.

Anti-HLA-C-Antikörper sind für die Thrombozytentransfusion von geringer Bedeutung (14 und 36).

Eine weitere Einschränkungsmöglichkeit ergibt sich durch die Einbeziehung kreuzreagierender Gruppen, also von Allelegruppen zu einem Locus, deren Einzelallele wahrscheinlich in

ihrer Antigenstruktur eine große Ähnlichkeit aufweisen, so daß eine Antikörperbildung innerhalb einer kreuzreagierenden Gruppe unwahrscheinlich ist.

Daß trotz Berücksichtigung HLA-identischer bzw. -kompatibler Spender Alloimmunisierungen vorkommen, ist wahrscheinlich auf thrombozyten- oder granulozytenspezifische Antikörper zurückzuführen (5 und 45).

Neueste Berichte sprechen auch von einer Resistenz bei Thrombozytentransfusionen bedingt durch Fremdeiweißreaktionen (3).

Grundsätzlich könnten bei bestehender Alloimmunisierung mit Hilfe der heute möglichen Testverfahren (Immunfluoreszenztechnik) auch derartige zellspezifische Merkmale in die Typisierung mit einbezogen werden.

Schließlich soll sich die Wirksamkeit einer Thrombozytentransfusion bei speziell immunisierten Patienten auch durch Verwendung von leukozytenarmen Plättchenkonzentraten verbessern lassen (25).

Dieser Effekt wird erklärt durch die Ausschaltung von Antigen-Antikörperreaktionen zwischen Leukozytenagglutinen und weißen Blutzellen, die die übertragenen Thrombozyten im Sinne einer "inocent bystander"-Reaktion schädigen (25).

Eine Splenektomie und/oder hochdosierte Kortikosteroidtherapie beim Empfänger vermögen nach eingetretener Resistenz das Ansprechen gegen inkompatible Blutplättchen zwar nicht wieder herzustellen, können aber die Wirksamkeit kompatibler Thrombozyten verbessern (22).

1.3 Mögliche Testverfahren

Gemäß den serologisch unterscheidbaren drei Arten von Antikörpern sind im Verlauf der letzten Jahre entsprechende Testverfahren zu ihrer Ermittlung entwickelt worden.

Diejenigen Antikörper, die Agglutinine sein können, werden mit Agglutinationstests, nämlich dem Leukoagglutinationstest (LAT) und dem Thromboagglutinationstest (TAT), nachgewiesen.

Komplementbindende Antikörper werden mit Zytotoxizitätstests nachgewiesen, und zwar für Leukozyten-Antikörper mit dem Lympho-, dem Granulo- und dem Monozytotoxizitätstest (LCT, GCT und MCT), sowie für Thrombozyten-Antikörper in der Komplementfixationstechnik.

Für die dritte Art von nicht-agglutinierenden und nicht-komplementbindenden Antikörpern konnten brauchbare Testverfahren erst nach Überwindung erheblicher Schwierigkeiten entwickelt werden.

Alternative Ansätze basieren auf dem "Antiglobulin-Prinzip". Jedoch war die Anwendung erschwert, da die Globuline dazu neigen, sich unspezifisch auf die Membran von Granulo-, Mono- und Thrombozyten anzulagern.

Drei derartige Testverfahren sind der Thrombozyten-Aggregometrie-Test, der Plättchenfaktor 3-Test und der Serotonin freisetzende Test (37, sowie 64 und 65).

Diese haben jedoch zu keinen wesentlichen Untersuchungsergebnissen geführt.

Eine weitere dieser Alternativmethoden ist die Immunfluoreszenztechnik (IFT).

Bei diesem Verfahren konnte schließlich festgestellt werden, daß die Fixation von Thrombozyten mit einer 1% Paraformaldehydlösung die unspezifische Fluoreszenz verhindert, ohne die Antigene auf der Thrombozytenmembran zu beeinträchtigen (4).

Granulozyten und Monozyten, die mit Paraformaldehyde behandelt werden, zeigen noch - wenn auch geringere - unspezifische Membranfluoreszenzen.

Diese Schwierigkeiten scheinen jedoch behebbar zu sein (61).

Die mit der Immunfluoreszenztechnik (IFT) für Lymphozyten verknüpften Schwierigkeiten sind anderer Art. B-Lymphozyten tragen Membran-Immunglobuline (Ig M) auf mehr als 90% der Zellen.

Nachdem dies nicht verhindert werden kann, wird der IFT mit Lymphozyten nur mit Anti-IgG ausgeführt.

Damit gibt es drei auf dieser Technik basierende Testverfahren, nämlich den Granuloimmunfluoreszenztest (GIFT), den Lymphozytenimmunfluoreszenztest (LIFT) und den Thrombozytenimmunfluoreszenztest (PIFT).

Als weitere alternative Tests für Thrombozyten gibt es noch die quantitative Messung von IgG auf der Thrombozytenmembran (12) und den radioaktiven Antiglobulintest (PRAT) mit ^{125}I markierten Anti-IgG (21 und 37).

Ein Nachteil dieser Technik ist allerdings, daß sie IgG oder IgA Antikörper nicht entdeckt.

Eine weitere Versuchstechnik ist die Quantifizierung von Thrombozyten verankertem IgG durch ^{125}I -staphylokokkalem Protein A (SPA), die bereits erfolgreich angewendet werden konnte (56).

Unter Verwendung der beschriebenen Techniken für die verschiedenen Zellen desselben Spenders gelangen ENGELFRIET et al zu einem aufschlußreichen Reaktionsmuster (siehe Tab. 1).

	LAT	LCT	LIFT	GIFT	PIFT
HLA - ABC	+/-	+	+	+/-	+
Lymphozyt- spezifisch	-	+/-	+/-	-	-
Granulozyt- spezifisch	+/-	-	-	+/-	-
Thrombozyt- spezifisch	-	-	-	-	+

Tabelle 1: Reaktionsmuster nach ENGELFRIET et al

Aufgrund dieser Übersicht erscheint es am sinnvollsten, daß für die Auffindung aller bekannten Antikörper eine Kombination vom Immunfluoreszenztest auf Lymphozyten, Thrombozyten und Granulozyten und vom Leukoagglutinations- und Lymphotoxizitätstest nötig ist (17).

Ein Sensibilitätsvergleich der Methoden hat ergeben, daß der IFT am empfindlichsten ist (17).

2. Problemstellung und Zielsetzung

Zur Klärung von Zusammenhängen zwischen häufigen Bluttransfusionen und möglichen Antikörperbildungen sind im Transfusionszentrum der Medizinischen Klinik III / BSD - BRK, Klinikum Großhadern der Universität München, Seren polytransfundierter Patienten untersucht worden.

Aufgrund der Untersuchungsergebnisse soll zu folgenden Fragen Stellung genommen werden:

1. In welchem Ausmaß werden im Verlauf von häufigen Bluttransfusionen Antikörper gebildet?
2. Welche Testverfahren sind geeignet für den Nachweis von Antikörperbildungen?
3. Welche Wirkfaktoren beeinflussen die Immunisierung durch Bluttransfusionen?
4. Welche Vorgehensweise können für einen Routinebetrieb empfohlen werden in bezug auf die Auswahl von Testverfahren und bezüglich der Verabreichung von Blutprodukten bei langzeittransfunden Patienten?

Die Art der Untersuchungsdurchführung ist im folgenden Abschnitt 3 näher beschrieben.

3. Patientengut und Methoden

Zur Gewinnung von erforderlichen Basisdaten wurden Serumproben polytransfundierter Patienten untersucht, von denen zum Teil anlässlich ihrer Transfusionen über mehrere Jahre Seren gewonnen und eingefroren werden konnten.

3.1 Patientengut und Testprobanden

In der Studie wurden Seren von 19 polytransfundierten Patienten, 11 männlichen und 8 weiblichen, untersucht.

Davon waren 9 Patienten an Leukämie, 7 an Anämie erkrankt, 2 Patienten hatten gastrointestinale Blutungen und 1 Patient hatte eine Niere transplantiert bekommen.

Zur Zeit der Durchführung dieser Untersuchung waren bereits 7 Patienten verstorben.

Das durchschnittliche Lebensalter der Patientengruppe liegt bei 49 Jahren. Die jüngste Patientin ist 19 Jahre alt und der älteste Patient ist 79 (siehe Tab. 2).

Pat.	Geschl.	Alter	Diagnose	S-Zeit	G	L	gEK	I
1	m	62	Fe-Mangel- anämie	30	37	30	7	-
2	w	55	C M L	8	63	63	0	+
3	w	72	apl. Anämie	78	204	174	30	-
4	m	67	Osteomyelo- sklerose	8	74	44	30	-
5	w	64	Plasmozytom	11	56	28	28	-
6	m	32	A M L	6	283	264	19	+
7	m	61	Blutendes Ulcus duodeni	3	68	68	0	-
8	m	27	Thalassämie	12	33	33	0	-
9	w	19	A M L	4	57	41	16	+
10	m	55	A M L	8	137	109	28	+
11	w	33	C M L	9	60	60	0	+
12	m	75	apl. Anämie	18	35	12	23	-
13	w	41	C L L	19	43	17	26	+
14	w	26	Blutendes Magen - CA	11	88	88	0	+
15	m	27	Transpl. Niere	52	32	30	2	+
16	w	41	A L L	18	63	27	36	+
17	m	48	A L L	3	202	202	0	+
18	m	79	Anämie	25	86	28	58	-
19	m	41	C M L	6	30	20	10	+

Ø 49 Ø 18 1651 1338 313

Tabelle 2: Übersicht über das Patientengut

+	Pat. z.Z. der Unters. bereits verstorben
S-Zeit	Sammelperiode der Seren in Monaten
G	Gesamtzahl der verabreichten Transfusionen
L	Anzahl der leukoreduzierten Transfusionen
gEK	Anzahl der filtrierte Erythrozytenkonzentrate
I	Verabreichung von Immunsuppressiva
CML	chronische myeloische Leukämie
CLL	chronische lymphatische Leukämie
AML	akute myeloische Leukämie
ALL	akute lymphatische Leukämie

Insgesamt erhielten die 19 Patienten 1 651 Transfusionen, das sind im Durchschnitt $\bar{\sigma}_G = 87$ Transfusionen, die in einem durchschnittlichen Zeitraum von $\bar{\sigma}_S = 18$ Monaten verabreicht wurden.

Der kürzeste Zeitraum der Transfusionstherapien betrug 3 Monate und der längste 78 (6 1/2 Jahre).

Von der Gesamtzahl der Transfusionen wurden 313 gefilterte Erythrozytenkonzentrate (EK) an 13 Patienten verabreicht, das heißt im Durchschnitt $\bar{\sigma}_{gEK} = 24$ (siehe auch Abb. 1).

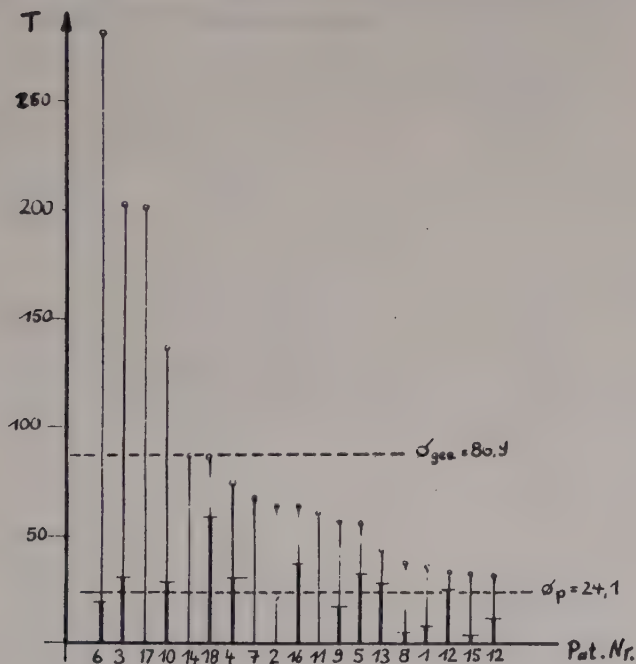


Abbildung 1: Anzahl der Transfusionen

Patienten-Nr. wie in Tabelle 2

—●— Gesamtanzahl der Transfusionen (T)
 —┐— Anteil der gefilterten EK (gEK)

Klinische Transfusionsreaktionen zeigten nur zwei Patienten (Nr. 7 und 16).

Für den Versuchsansatz wurde eine Spendergruppe von insgesamt 27 gesunden Probanden mit einem breiten HLA-Muster ausgewählt (siehe Tab. 3).

Nr. HLA - Muster

1	A 9 / (w30 / 31)	B 13 / 15	C w3 / -
2	A 3 / -	B 7 / 13	-
3	A 2 / 26	B 12 / 27	C w2 / -
4	A 1 / 2	B 7 / 37	C w6 / -
5	A 28	B 8 / 40	C w3 / -
6	A w24 / (9)	B w35 / 40	C w2 / 4
7	A 11 / 3	B 17 / 18	-
8+	A 9 / 26	B 5 / 15	-
9+	A 2 / 3	B 7 / 15	-
10+	A 2 / -	B 12 / 27	C w2 / -
11+	A 1 / 3	B 8 / w35	C w4 / -
12+	A 2 / -	B 7 / w16	-
13+	A 1 / 3	B 8 / 40	-
14+	A 2 / -	B 40 / 17	C w3 / -
15	A 1 / 2	B 40 / w35	C w3 / 4
16+	A 3 / -	B 12 / w16	-
17+	A 2 / 10	B 7 / 18	-
18+	A 1 / 9	B 8 / w35	C w4 / -
19	A 9 / 28	B w35 / 15	C w4 / -
20	A 3 / -	B 7 / w35	C w4 / -
21	A 2 / 11	B 7 / w21	C w6 / 7
22	A 2 / -	B 14 / 40	C w3 / -
23	A 2 / -	B 12 / 40	C w3 / 4
24	A 2 / -	B 8 / 13	C w3 / -
25	A 1 / 10	B 15 / w16	C w3 / -
26	A 1 / 9	B 8 / w35	C w4 / -
27	A 2 / 9	B 7 / -	C w2 / -

Tabelle 3: Übersicht über die HLA-Muster der Spender

+ Spender, deren Seren für den PIFT verwendet wurden

Zellen dieser Spender wurden mit jeweils zwei bis fünf Seren der 19 Patienten über einen Zeitraum von einem Jahr zu 1 149 Crossmatch-Reaktionen verwendet.

Hiervon waren allerdings 76 Ergebnisse (6%) nicht auszuwerten, da entweder keine Zellen vorhanden waren oder das Serum geronnen war, so daß 1 073 auszuwertende Ergebnisse vorliegen.

Parallel dazu wurden 55 dieser eingefrorenen Seren gegen 10 Spender in 200 Ansätzen mit der indirekten Immunfluoreszenzmethode auf Thrombozyten untersucht (siehe Tab. 3):

3.2 Methoden

In der Untersuchung sind zwei Testverfahren angewendet worden, der auch als HLA-Crossmatch bezeichnete Zweistufentest nach TERASAKI (LCT) und der Plättchen-Immun-Fluoreszenz-Test (PIFT).

3.2.1 Zweistufentest nach Terasaki (LCT)

Für den Zweistufentest nach TERASAKI wurde eine Lymphozytensuspension des Spenderblutes hergestellt, die dann mit dem bei -60° C gelagerten und aufgetauten Seren der Patienten zur Reaktion gebracht wurde.

Von den Spendern wurde jeweils 10 ml heparinisiertes Blut 1 : 100 abgenommen, und zwei Volumenteile Blut über einem Volumenteil Ficoll-Isopaque in Glasröhrchen geschichtet. Diese Glasröhrchen wurden dann 20 Minuten bei 2000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert.

Mittels einer feinen Pasteurpipette wurden die Lymphozyten zwischen dem Ficoll-Isopaque und dem Serum abpipettiert. Die Lymphozyten wurden dann mit Natriumchloridphosphat (PBS) verdünnt und 10 Minuten bei 1000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert.

Der Überstand wird abgossen und die aufgeschüttelten Zellen werden wieder mit PBS verdünnt und 10 Minuten bei 1000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert.

Dieselbe Prozedur wird ein drittes Mal wiederholt.

Dann werden die aufgeschüttelten Lymphozyten in 1 ml Mc Coy's Lösung gelöst und zum Zählen in eine dafür vorgesehene kleine Pipette zur Hälfte die Zellenlösung und zur anderen Hälfte 3%ige Essigsäure aufgesogen.

Nun wird ein Tropfen in eine Neubauer-Zählkammer eingebracht und die Lymphozytenlösung auf fünf bis sechs Millionen Zellen pro ml eingestellt.

In die beschrifteten Testplatten wird zuerst ein wenig Mineralöl eingebracht, dann in die beiden ersten Reihen 1 μ l positives und negatives Kontrollserum und in die übrigen Reihen jeweils das aufgetaute Serum des Patienten.

Darüber wird 1 μ l der Lymphozytensuspension des jeweiligen Spenders gegeben und 30 Minuten bei +15° bis 25° C inkubiert. Dann werden jeweils 5 μ l Kanninchenkomplement zugegeben und wieder 60 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert.

Danach werden 3 μ l 5%iges wäßriges Eosin, und 2 Minuten später 8 μ l Formaldehyd (35 - 40%ig, pH 7,2) hinzugegeben und das Deckglas aufgelegt.

Am nächsten Tag kann das Ergebnis unter einem Umkehrmikroskop im Phasenkontrast abgelesen werden.

Lysierte Zellen erscheinen aufgequollen (positive Reaktion), nicht lysierte Zellen dagegen hell aufleuchtend und klein (negative Reaktion).

Mit der Negativ- und Positiv-Kontrolle verglichen gilt als positives Ergebnis ein Auftreten von mehr als 60% lysierten Zellen in allen vier Reihen.

3.2.2 Plättchen-Immun-Fluoreszenz-Test (PIFT)

Für den Plättchenimmunfluoreszenztest wurden hauptsächlich Spender der Blutgruppe 0 verwendet.

Zur Herstellung der Thrombozytensuspension wurden 4 ml EDTA Blut 1 : 10 von den Spendern gewonnen.

Das Blut wird 5 Minuten bei 1500 Umdrehungen pro Minute und 20° C zentrifugiert und das thrombozytenreiche Plasma abpipettiert.

Dieses Plasma wird anschließend 20 Minuten bei 4000 Umdrehungen pro Minute und 20° C zentrifugiert, der Überstand abgegossen und das Sediment dreimal mit EDTA - PBS (9 mM Na₂ EDTA, 26,4 mM Na₂ Na₂HPO₄, 140 mM NaCl, pH 6,8 - 7,0) gewaschen.

Dabei wird dieses wiederum 10 Minuten bei 2000 Umdrehungen pro Minute und 20° C zentrifugiert.

Danach wird das Sediment mit 3 µl 1% PFA - PBS - BSA (PFA = Paraformaldehyd; BSA = bovine-serum-albumin) zwei bis drei Minuten und 20° C inkubiert zur Fixation der Thrombozyten und anschließend wieder zweimal mit EDTA-PBS-BSA gewaschen.

Die aufgeschüttelten Thrombozyten werden in 1 µl EDTA-PBS-BSA resuspendiert, in der Neubauer-Kammer ausgezählt und auf 150×10^6 Thrombozyten pro µl eingestellt.

Dann werden 0,1 µl der PFA fixierten Thrombozyten des Spenders mit 0,1 µl inaktiviertem Serum des Patienten im Verhältnis 1 : 1 und 1 : 2, sowie einmal für die Negativ-Kontrolle mit 0,1 µl AB-Serum 30 bis 90 Minuten und 37° C inkubiert.

Anschließend wird dreimal mit EDTA-PBS-BSA gewaschen.

Das Sediment wird mit $0,1 \mu\text{l}$ Fluorescein isothiocyanate (FITC) im Verhältnis 1 : 10 und 1 : 20 nunmehr 30 Minuten bei 20°C inkubiert.

Danach wird noch zweimal mit EDTA-PBS-BSA gewaschen und das Sediment mit $0,1 \mu\text{l}$ Glycerol-PBS (30%ig) resuspendiert. Ein Tropfen davon wird jeweils auf einen Objektträger gegeben, und dieser mittels eines Deckglases luftdicht verschlossen.

Anschließend werden die Objektträger unter dem Fluoreszenzmikroskop bei einer 63-Objektiv-Vergrößerung mit Öl ausgewertet.

Als positives Ergebnis gelten mehr als 60% lysierte Thrombozyten in vier verschiedenen Verdünnungsverhältnissen, verglichen mit der Negativ-Kontrolle.

Die Thrombozyten gelten als lysiert, wenn ein fluoreszierender perlschnurartiger Ring um die Zellen zu beobachten ist.

4. Ergebnisse

Als Grundlage für die in der Untersuchung ermittelten Teilergebnisse sowie für die Diskussion und Interpretation der einzelnen Teilergebnisse sind die Rohdaten tabellarisch geordnet im ersten Teilabschnitt dargestellt.

Anschließend sind in den weiteren Teilabschnitten die wesentlichen Ergebnisse über Zusammenhänge zwischen positiven Reaktionen und Transfusionsanzahlen, gefilterten EK, Immunsuppressiva und Krankheitsbildern dargestellt, sowie die Vergleichsergebnisse über die beiden angewendeten Testverfahren und im letzten Teilabschnitt die Untersuchungsergebnisse in bezug auf die einzelnen Krankheitsfälle im zeitlichen Verlauf der jeweiligen Transfusionsperiode.

4.1 LCT- und PIFT-Ergebnisse

Zur besseren Übersicht sind alle Einzelergebnisse in einer gemeinsamen Tabelle aufgeführt, die in den nachfolgenden Teilabschnitten zu den jeweiligen Teilergebnissen verarbeitet dargestellt sind (siehe Tab. 4).

Mit Hilfe des LCT zeigten 17 der 19 untersuchten Patienten (89%) überhaupt positive Reaktionen mit mehr oder weniger der 27 Probanden, und zwar im Gesamtdurchschnitt aller individuellen Durchschnittswerte mit 21% der jeweils mit mehreren Seren getesteten Probanden.

Von insgesamt 1 152 durchgeführten Kreuzproben mit Hilfe des LCT konnten 1 073 ausgewertet werden. Das sind 93% verwendbare Testergebnisse.

Parallel zu 200 dieser auswertbaren LCT-Ergebnisse (LCT_p) wurden mit dem PIFT nochmals entsprechende Kreuzproben durchgeführt (siehe Tab. 4).

Pat. Nr.	LCT	LCT _p	PIFT
1	37	21	50
2	24	36	7
3	85	64	57
4	18	29	29
5	67	70	50
6	6	0	0
7	3	0	0
8	21	19	50
9	6	22	22
10	34	67	78
11	5	0	56
12	2	0	78
13	7	0	0
14	0	0	0
15	30	0	100
16	31	11	22
17	7	11	0
18	21	22	56
19	0	0	0
Ø	21	20	31

Tabelle 4: Übersicht über die positiven Reaktionen

Die Zahlenwerte in der Tabelle bedeuten jeweils die prozentualen Anteile der positiven Reaktionen eines Patienten-Serums gegen verschiedene Probanden-Lymphozyten/ -Thrombozyten

LCT: jeweils gegen 27 Probanden (= 100%)

LCT_p und PIFT: jeweils gegen 10 Probanden (= 100%)

Im LCT_p ergab sich ein Gesamtdurchschnittswert aller individuellen Durchschnittswerte von 20%.

Es spricht für die Testgüte des LCT, daß der Durchschnittswert dieser Untergruppe beinahe identisch ist mit dem aller ermittelten Kreuzproben (21%).

Dagegen hat der entsprechende Durchschnittswert mit Hilfe des PIFT in der Paralleluntersuchung zu 31% geführt.

Der Unterschied der beiden Gesamtdurchschnittswerte von LCT_p und PIFT ist nicht mehr zufällig, da mit Hilfe des PIFT im Durchschnitt 11% mehr positive Reaktionen nachgewiesen werden können, also eineinhalb mal so viel wie mit Hilfe des LCT_p .

4.2 Positive Reaktionen im Zusammenhang mit der Transfusionsfrequenz

Um einen Zusammenhang zwischen positiven Reaktionen der Patienten und der Anzahl der verabreichten Transfusionen zu ermitteln, ist der TERASAKI-Test angewendet worden.

Bei einer Klassenbildung von vier Patientengruppen mit jeweils positiven Reaktionen bis 10%, von 10 bis 30%, von 30 bis 40% und über 40% der Probandenlymphozyten ergibt sich ein Anstieg der zugehörigen durchschnittlichen Anzahl von insgesamt verabreichten Transfusionen (siehe Tab. 5).

Pat.Nr.	pos.Reakt.(%)	Transf.Anz.	Ø pro Gruppe
19	0	30	
14	0	88	
12	2	35	50
7	3	68	
11	5	60	54
9	6	57	
13	7	43	
4	18	74	
8	21	37	
18	21	86	58
2	24	63	
15	29	32	
16	31	63	
10	34	137	79
1	37	37	
5	67	56	
3	85	204	130

Tabelle 5: Zusammenhang zwischen positiven Reaktionen
und Transfusionsfrequenz

In der Tabelle 5 sind die Patienten Nr. 6 und 17 nicht mit berücksichtigt (siehe 5.2).

4.3 Positive Reaktionen im Zusammenhang mit Transfusionen von gefilterten EK

Ob ein Zusammenhang besteht zwischen positiven Reaktionen der Patientenserum und der Anzahl der verabreichten gefilterten EK bzw. ob diese Art der Transfusionen keine Erhöhung positiver Reaktionen bewirken, ist mit Hilfe beider Testverfahren (LCT und PIFT) untersucht worden.

Bei einer Klasseneinteilung der 13 betroffenen Patienten in drei Untergruppen mit gefilterten EK bis zu 20, von 20 bis 30 und über 30 ergeben sich unterschiedliche Durchschnittswerte der prozentualen positiven Reaktionen bezüglich der beiden Testverfahren (siehe Tab. 6).

Pat.Nr.	Anz.gef.EK	Ø	LCT	Ø	LCT _p	Ø	PIFT	Ø
15	2		30		0		100	
1	7		37		21		50	
19	10	11	0	16	0	9	0	34
9	16		6		22		22	
6	19		6		0		0	
12	23		2		0		78	
13	26		7		0		0	
5	28	26	67	27	70	34	50	51
10	28		34		67		78	
4	30		18		29		29	
3	30		85		64		57	
16	36	39	31	39	11	32	22	41
18	58		21		22		56	

Tabelle 6: Unabhängigkeit der positiven Reaktionen von der Gabe gefilterter EK

Nur bei dem TERASAKI-Test (LCT) ergeben sich mit steigenden Durchschnittswerten der Anzahlen von gefilterten EK auch steigende Durchschnittswerte der positiven Reaktionen.

Aber bereits die Vergleichswerte (LCT_p) lassen erkennen, daß zwar zunächst ein Anstieg zu beobachten ist, demgegenüber die Durchschnittswerte der positiven Reaktionen zur letzten Gruppe hin jedoch wieder abnehmend sind.

Ein gleichartiges Ergebnis mit schwankenden Durchschnittswerten der positiven Reaktionen bei steigenden Anzahlen von gefilterten Ek liefert ebenfalls der PIFT.

Ein genaueres Ergebnis über mögliche Auswirkungen gefilterter EK hinsichtlich positiver Reaktionen ist in einer derartigen Patientengruppe ohnehin kaum möglich, da einerseits alle beteiligten Patienten bereits mit anderen Transfusionen vorbehandelt waren und andererseits weitere Einflußfaktoren nicht auszuschließen sind.

4.4 Positive Reaktionen im Zusammenhang mit Immunsuppressiva

Um Auswirkungen von Immunsuppressiva auf die positiven Reaktionen der Patienten zu untersuchen, sind ebenfalls beide Testverfahren (LCT und PIFT) angewendet worden.

Ein Vergleich zwischen der Gruppe von 12 immunsupremierten Patienten und der Restgruppe von 7 Patienten läßt für die jeweiligen Durchschnittswerte positiver Reaktionen mit beiden Tests erkennen, daß die Werte der Restgruppe deutlich höher sind als die der Gruppe mit immunsupremierten Patienten (siehe Tab. 7).

	n	LCT _{ges}	LCT _p	PIFT
I - Gruppe	12	18%	18%	28%
R - Gruppe	7	27%	22%	54%

Tabelle 7: Durchschnittswerte positiver Reaktionen in Abhängigkeit von Immunsuppressiva

I-Gruppe: Immunsupremierte Patienten
R-Gruppe: Restgruppe ohne Immunsuppressiva
n: Anzahl der Patienten

Der Unterschied der Durchschnittswerte positiver Reaktionen zwischen den Patienten mit Immunsuppressiva und ohne kommt am besten zum Ausdruck mit Hilfe des PIFT. Hier beträgt die absolute Differenz im Durchschnitt bereits 26% gegenüber der beim LCT_{ges} von 9%.

Im Verhältnis sind mit dem LCT nur 33% weniger und mit dem PIFT sind in der I-Gruppe durchschnittlich 48% weniger Reaktionen mit den getesteten Probanden nachzuweisen.

4.5 Positive Reaktionen im Zusammenhang mit Krankheitsbildern

Inwieweit die Krankheitsbilder der untersuchten Patienten, insbesondere der an Leukämie und an Anämie erkrankten, zu unterschiedlichen positiven Reaktionen führen können, ist auch mit dem TERASAKI-Test und dem PIFT untersucht worden.

Die 9 der untersuchten 19 Patienten, die an Leukämie erkrankt sind, zeigen in bezug auf beide Tests erheblich geringere durchschnittliche Werte positiver Reaktionen als die 7 an Anämie erkrankten Patienten (siehe Tab. 8).

	n	LCT _{ges}	LCT _p	PIFT
Leukämie	9	13%	16%	21%
Anämie	7	26%	32%	53%

Tabelle 8: Durchschnittswerte positiver Reaktionen in Abhängigkeit von Krankheitsbildern

Die restlichen drei Patienten sind von ihren Krankheitsbildern her für diese Untersuchung nicht einzuordnen (siehe Tab. 2).

Diese Unterschiede der jeweiligen positiven Reaktionen im Zusammenhang mit den beiden Krankheitsbildern, also die erheblichen Unterschiede zwischen den 9 an Leukämie erkrankten Patienten und den 7 an Anämie erkrankten, kommen besonders deutlich zum Ausdruck durch eine Darstellung der Verteilungen in einem 6-Felderschema.

Die nach dem LCT ermittelten prozentualen positiven Reaktionen der 16 Patienten sind in drei Gruppen aufgeteilt (0 - 18%; 19 - 36% und 37 - 90%).

Bei dieser Aufteilung sind die Ergebnisse vom LCT_{ges} und LCT_p für die beiden Krankheitsbilder fast identisch (siehe Tab. 9).

	n	0 - 18%	19 - 36%	37 - 90%
Leukämie	9	6 (6)	3 (2)	0 (1)
Anämie	7	1 (1)	3 (4)	3 (2)
zus.	16	7 (7)	6 (6)	3 (3)

Tabelle 9: Verteilungen der prozentualen positiven Reaktionen nach Krankheitsbildern gemäß LCT_{ges} und in Klammern gemäß LCT_p

Die nach dem PIFT ermittelten höheren Werte von positiven Reaktionen der 16 Patienten mit den zugehörigen Probanden der Paralleluntersuchung sind ebenfalls in drei Gruppen aufgeteilt (0 - 24%; 25 - 49% und 50 - 90%).

Die Verteilungen dieser ermittelten Werte im 6-Felderschema bestätigen die Ergebnisse mit dem LCT vollauf (siehe Tab.10).

	n	0 - 24%	25 - 49%	50 - 90%
Leukämie	9	7	0	2
Anämie	7	0	1	6
zus.	16	7	1	8

Tabelle 10: Verteilungen der prozentualen positiven Reaktionen nach Krankheitsbildern mit PIFT

Sowohl eine Gegenüberstellung von Durchschnittswerten positiver Reaktionen geordnet nach Krankheitsbildern als auch

eine Darstellung der Verteilungen nach jeweils drei Klassen niedriger, mittlerer und höherer Werte um den Mittelwert lassen für beide Testverfahren in gleicher Weise eine deutliche Tendenz erkennen.

Die positiven Reaktionen sind bei an Leukämie erkrankten Patienten erheblich geringer als bei an Anämie erkrankten.

Diese Unterschiede im Auftreten von positiven Reaktionen in Abhängigkeit von Krankheitsbildern kommen mit Hilfe des PIFT am stärksten zum Ausdruck.

4.6 Vergleich von LCT und PIFT

200 Versuche wurden mit dem Zweistufentest nach TERASAKI (LCT) und dem Plättchenimmunfluoreszenztest (PIFT) parallel durchgeführt.

Davon stimmen 133 Meßwerte, also 67%, in ihren Ergebnissen überein. 67 Ergebnisse (33%) waren unterschiedlich.

Von diesen unterschiedlichen Ergebnissen waren 50, also 25% der Gesamtversuche, im LCT negativ und im PIFT positiv.

Lediglich 17 Ergebnisse (8%) waren umgekehrt im LCT positiv und im PIFT negativ (siehe Tab. 11).

		LCT		
		positiv	negativ	zus.
PIFT	positiv	26 (13%)	50 (25%)	76 (38%)
	negativ	17 (8%)	107 (54%)	124 (62%)
	zus.	43 (21%)	157 (79%)	200 (100%)

Tabelle 11: Vierfeldertafel für Testvergleich von LCT und PIFT

Die Gleichwertigkeit der beiden Testverfahren ist hochsignifikant (mit $p < 0,001$ und $\chi^2 = 11,734 > 10,828$).

Die Ergebnisse über diesen bedeutsamen korrelativen Zusammenhang zwischen den beiden angewendeten Testverfahren lassen außerdem erkennen, daß der PIFT der empfindlichere Test ist.

Er reagiert mit einem größeren Antikörpermuster und ergibt damit offensichtlich mehr positive Reaktionen (76 gegenüber 43 im LCT).

4.7 Einzelfalldarstellungen

Die durchgeführte Untersuchung basiert auf einer sehr unterschiedlichen Gruppe von Patienten.

Die einzelnen Patienten unterscheiden sich in ihren Diagnosen, in den jeweils zugehörigen Therapien, einschließlich der jeweiligen Behandlungsdauer, in den Beobachtungszeiträumen und vor allem in der jeweils verabreichten Art bzw. Folge von Bluttransfusionen.

Aufgrund dieser vorgegebenen Untersuchungsbedingungen als Grundlage für eine differenzierte Diskussion und Interpretation der Untersuchungsergebnisse sind in diesem Teilabschnitt die wesentlichen Daten der Einzelfälle im Zusammenhang mit dem zeitlichen Ablauf für jeden Patienten in alphabetischer Reihenfolge gesondert dargestellt (siehe Abb. 2 bis 20).

Auf einer Zeitachse über dem Seren-Entnahme-Datum sind die jeweiligen prozentualen positiven Reaktionen, d.h. der prozentuale Anteil der positiven Reaktionen eines Patientenserums gegenüber 27 Probandenlymphozyten für LCT_{ges} und gegenüber 10 davon für LCT_p und PIFT als Säulendiagramm aufgetragen (LCT_{ges} an erster Stelle breit, LCT_p an zweiter Stelle schmal und PIFT an dritter Stelle ebenfalls schmal);

- unmittelbar darunter sind die ermittelten negativen und positiven Reaktionen, sowie die Durchschnittswerte prozentualer positiver Anteile für LCT_{ges} , LCT_p und PIFT aufgeführt;
- schließlich sind konform zur Zeitachse die zwischen den Entnahmen von Seren verabreichten Transfusionsanzahlen geordnet nach Art der Transfusionstherapie dargestellt.

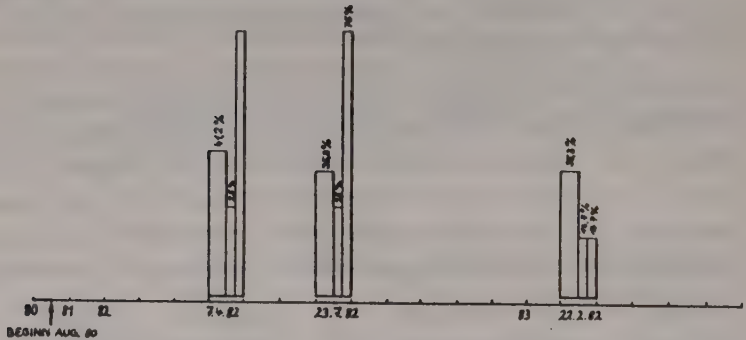
Patient 1: 62 Jahre; m; Fe-Mangelanämie

Transfusionsübersicht: 30 Monate, insg. 37 Transf.

davon 7 gefilt. EK

Testseren: vom 7.4.82; 23.7.82 und 22.2.83

Reaktion: keine

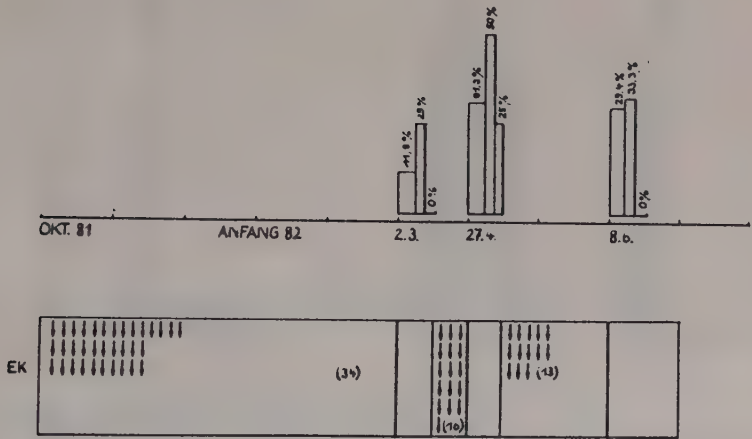


EK	4	2	
1n.gew.EK	12	2	4
2n.gew.EK	2		
3n.gew.EK	4		
PRESTO			7

Testreaktionen: 32- 19+ 37,2 % LCT
 11- 3+ 21,4 % LCT_p
 7- 7+ 50,0 % PIPT

Abbildung 2

Patient 2: 55 Jahre; w; C M L
 Transfusionsübersicht: 8 Monate, insg. 63 EK
 Testseren: vom 2.3.82; 27.4.82 und 8.6.82
 Reaktion: keine



Testreaktionen: 38- 12+ 24,0 % LCT
 9- 5+ 35,7 % LCT_p
 13- 1+ 7,1 % PIFT

Abbildung 3

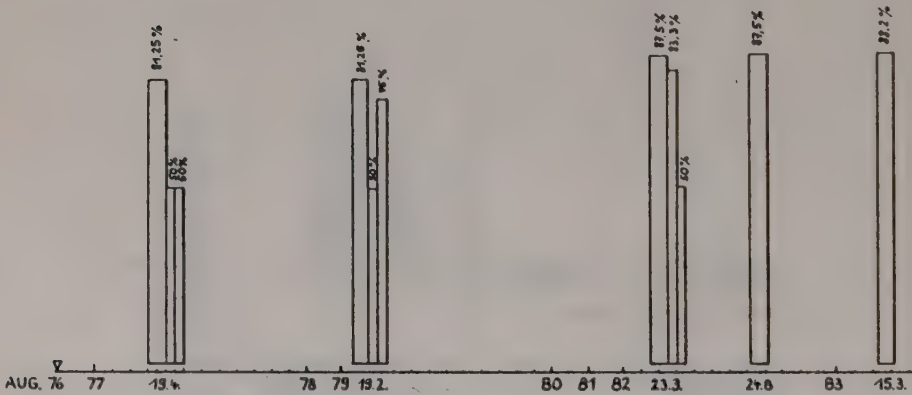
Patient 3: 72 Jahre; w; aplastische Anämie

Transfusionsübersicht: 78 Monate, insg. 204 Transf.

davon 30 gefilt. EK

Testseren: vom 19.4.77; 19.2.79; 23.3.82 und 15.3.83

Reaktion: keine

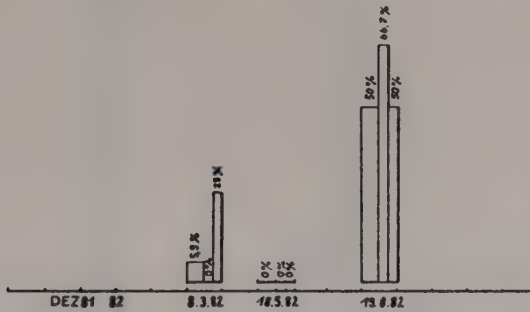


gew. EK	16	47	80	12 (3a gew. EK)	19 (3a gew. EK)
PRESTO			28		2

Testreaktionen: 12- 69+ 85,2 % LCT
 5- 9+ 64,3 % LCT_p
 6- 8+ 57,1 % PIFT

Abbildung 4

Patient 4: 67 Jahre; f; m; Osteomyelosklerose
 Transfusionsübersicht: 8 Monate, insg. 74 Transf.
 davon 30 gefilt. EK
 Testseren: vom 8.3.82; 18.5.82 und 19.8.82
 Reaktion: keine



VII	2				
EK	4				
1a gew. EK	10			2	
2a gew. EK	4				
3a gew. EK		10		12	
Presto	28	2			

Testreaktionen: 40- 9+ 18,4 % LCT
 10- 4+ 28,6 % LCT_p
 10- 4+ 28,6 % PIFT

Abbildung 5

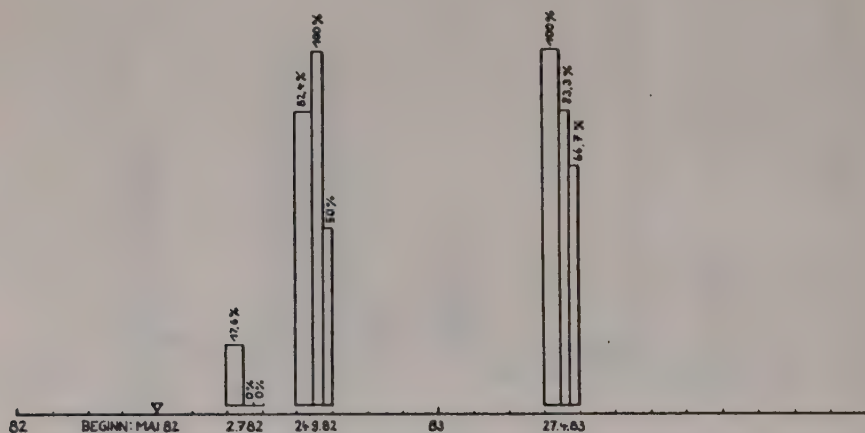
Patient 5: 64 Jahre; w; Plasmozytom

Transfusionsübersicht: 11 Monate, insg. 56 Transf.

davon 28 gefilt. EK

Testseren: vom 2.7.82; 24.9.82 und 27.4.83

Reaktion: keine



EK	8	12	8
Preste			28

Testreaktionen:	17-	34+	66,6 %	LCT
	3-	7+	70,0 %	LCT _p
	5-	5+	50,0 %	PIFT

Abbildung 6

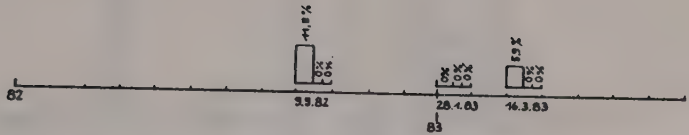
Patient 6: 32 Jahre; m; A M L

Transfusionsübersicht: 6 Monate, insg. 283 Transf.

davon 19 gefilt. EK

Testseren: vom 9.8.82; 28.1.83 und 16.3.83

Reaktion: keine

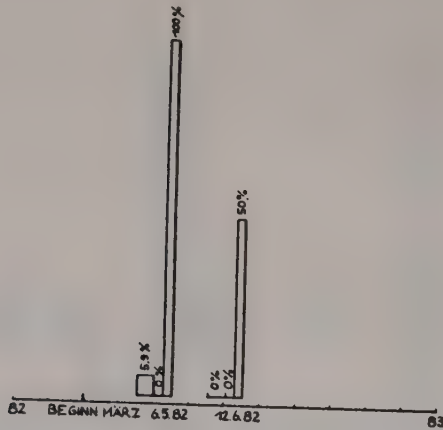


EK		2				10
FFP						1
GK/TK ½						3
GK ½						2
TK ½				101		25
TK ½		20				100
PRESTO				15		4

Testreaktionen: 48- 3+ 5,9 % LCT
 10- 0+ 0,0 % LCT_p
 10- 0+ 0,0 % PIFT

Abbildung 7

Patient 7: 61 Jahre; f; m; Blutendes Ulcus duodeni
 Transfusionsübersicht: 3 Monate, insg. 68 Transf.
 Testseren: vom 6.5.82 und 12.6.82
 Reaktion: Fieber, leichter Schüttelfrost



VB	6	4
WB	3	
FFP	5	5
EA	6	29

Testreaktionen: 33- 1+ 2,9 % LCT
 10- 0+ 0,0 % LCT_P
 4- 6+ 60,0 % PIPT

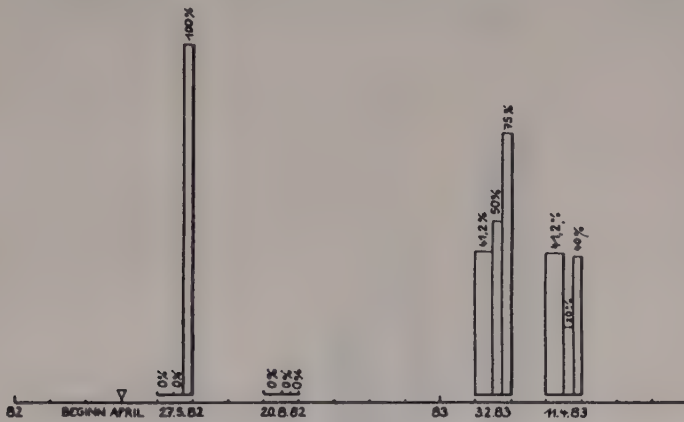
Abbildung 8

Patient 8: 27 Jahre; m; Thalassämie

Transfusionsübersicht: 12 Monate, insg. 33 Transf.

Testseren: vom 27.5.82; 20.8.82; 3.2.83 und 11.4.83

Reaktion: keine



EX

6	11	6	10
---	----	---	----

Testreaktionen: 54- 14+ 20,6 % LCT
 13- 3+ 18,7 % LCT_p
 8- 8+ 50,0 % PIFT

Abbildung 9

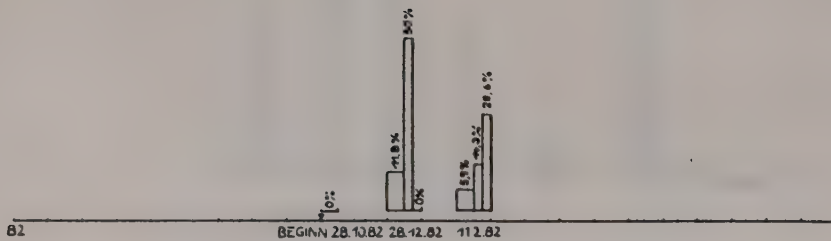
Patient 9: 19 Jahre; w; A M L

Transfusionsübersicht: 4 Monate, insg. 57 Transf.

davon 16 gefilt. EK

Testseren: vom 28.10.82; 28.12.82 und 11.2.83

Reaktion: keine



TK	28	8
TK	4	
PRESTO	12	4

Testreaktionen: 48- 3+ 5,9 % LCT
 7- 2+ 22,2 % LCT_p
 7- 2+ 22,2 % PIFT

Abbildung 10

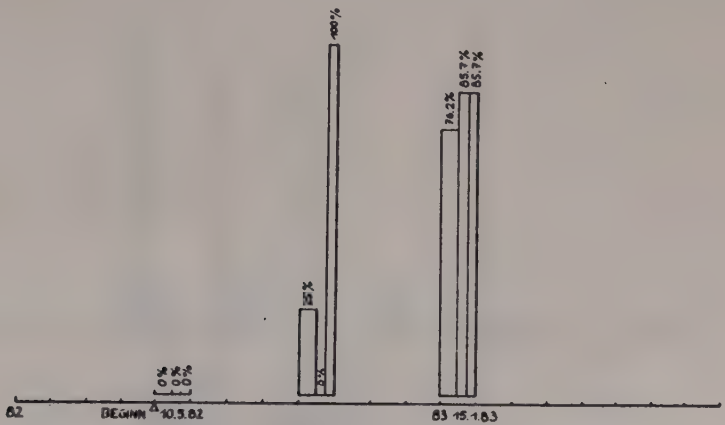
Patient 10: 55 Jahre; f; m; A M L

Transfusionsübersicht: 8 Monate, insg. 137 Transf.

davon 28 gefilt. EK

Testseren: vom 10.5.82; 3.9.82 und 15.1.83

Reaktion: keine

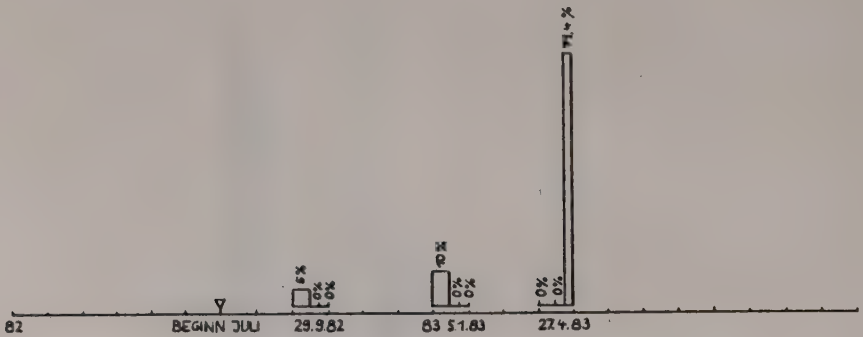


EK			4		3
TK	8		62		16
TA			4		4
GK			5		
TK/GK			1		
PRESTO			12		16

Testreaktionen: 40- 21+ 34,4 % LCT
 3- 6+ 66,6 % LCT_p
 2- 7+ 77,8 % PIFT

Abbildung 11

Patient 11: 33 Jahre; w; C M L
 Transfusionsübersicht: 9 Monate, insg. 60 Transf.
 Testseren: vom 29.9.82; 5.1.83 und 27.4.83
 Reaktion: keine

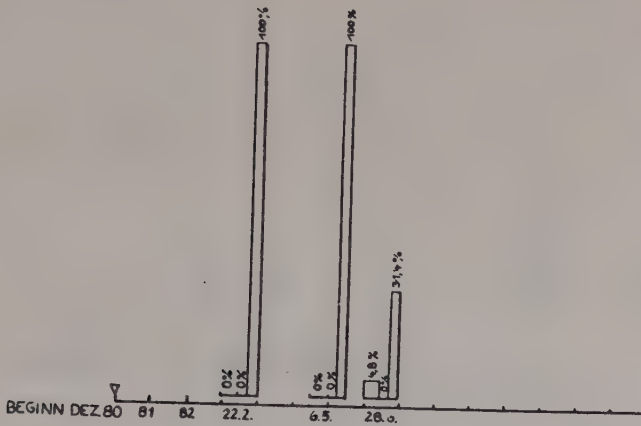


EK	0	20	26
TK		6	

Testreaktionen: 58- 3+ 4,9 % LCT
 9- 0+ 0,0 % LCT_p
 4- 5+ 55,6 % PIFT

Abbildung 12

Patient 12: 75 Jahre; f; m; aplastische Anämie
 Transfusionsübersicht: 18 Monate, insg. 35 Transf.
 davon 23 gefilt. EK
 Testseren: vom 22.2.82; 6.5.82 und 28.6.82
 Reaktion: keine



EK	0				
1x gew. EK	+				
PRESTO	0		?	0	

Testreaktionen: 60- 1+ 1,6 % LCT
 9- 0+ 0,0 % LCT_p
 2- 7+ 77,8 % PIFT

Abbildung 13

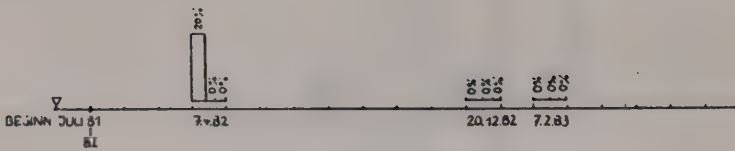
Patient 13: 41 Jahre; f; w; C L L

Transfusionsübersicht: 19 Monate, insg. 43 Transf.

davon 26 gefilt. EK

Testseren: vom 7.4.82; 20.12.82 und 7.2.83

Reaktion: keine

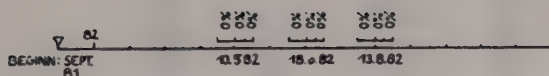


EK	3				3
1a gew EK	2				
2a gew EK	2				
GK	3				
TK	1				
PRESTO	23		4		2

Testreaktionen: 57- 4+ 6,6 % LCT
 9- 0+ 0,0 % LCT_p
 9- 0+ 0,0 % PIFT

Abbildung 14

Patient 14: 26 Jahre; f; w; blutendes Magen-CA
 Transfusionsübersicht: 11 Monate, insg. 88 Transf.
 Testserien: vom 10.5.82; 18.6.82 und 13.8.82
 Reaktion: keine

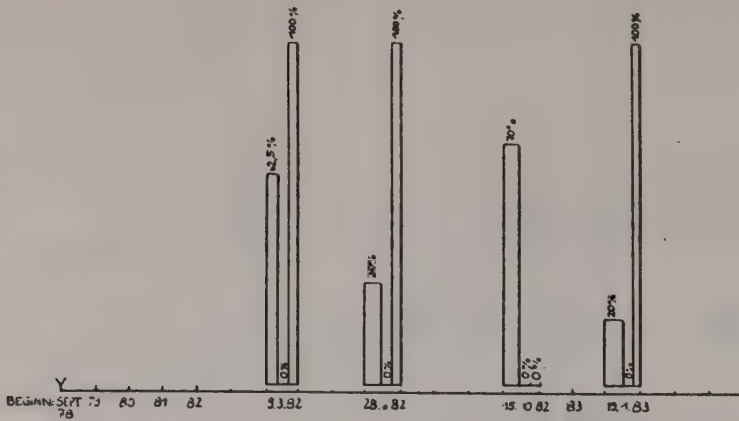


EK	29		7		20
VB	21				
FFP	16				

Testreaktionen: 41- 0+ 0,0 % LCT
 9- 0+ 0,0 % LCT_p
 9- 0+ 0,0 % PIFT

Abbildung 15

Patient 15: 27 Jahre; m; Transplantationsniere
 Transfusionsübersicht: 52 Monate, insg. 32 Transf.
 davon 2 gefilt. EK
 Testseren: vom 9.3.82; 28.6.82; 15.10.82 und 9.1.83
 Reaktion: keine



EK	7	2			
1% gew. EK	12	1	6	2	
PRESTO				2	

Testreaktionen: 57- 24+ 29,6 % LCT
 9- 0+ 0,0 % LCT_P
 0- 9+ 100,0 % PIFT

Abbildung 16

Patient 16: 41 Jahre; w; A L L

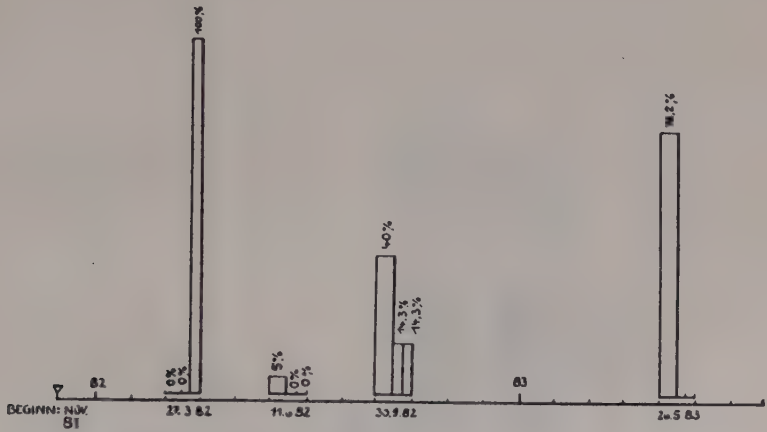
Transfusionsübersicht: 18 Monate, insg. 63 Transf.

davon 36 gefilt. EK

Testseren: vom 27.3.82; 11.6.82; 30.9.82 und 26.5.83

Reaktion: Fieber, leichter Schüttelfrost,

Erbrechen am 3.9.82

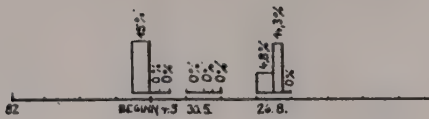


TK +				27	
PRESTO	4	3	21	8	

Testreaktionen: 56- 25+ 30,9 % LCT
 8- 1+ 11,1 % LCT_p
 7- 2+ 22,2 % PIPT

Abbildung 17

Patient 17: 48 Jahre; f; m; A L L
 Transfusionsübersicht: 3 Monate, insg. 202 Transf.
 Testseren: vom 4.5.82; 30.6.82 und 26.8.82
 Reaktion: keine

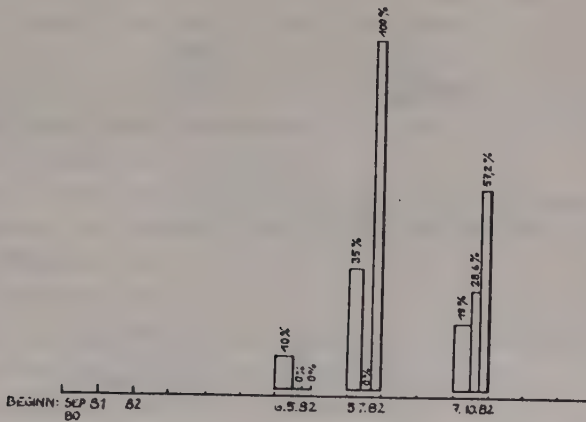


EK		4	18
FFP		21	
TK		0	70
TK	h		4
GK/TK	h		5
GK/TK	h		2
GK	h		5
GK	h		1

Testreaktionen: 57- 4+ 6,6 % LCT
 8- 1+ 11,1 % LCT_p
 9- 0+ 0,0 % PIFT

Abbildung 18

Patient 18: 79 Jahre; m; Anämie
 Transfusionsübersicht: 25 Monate, insg. 86 Transf.
 davon 58 gefilt. EK
 Testseren: vom 6.5.82; 5.7.82 und 7.10.82
 Reaktion: keine



EK	8					
1a gew. EK	20					
PRESTO	35	3			14	

Testreaktionen: 48- 13+ 21,3 % LCT
 7- 2+ 22,2 % LCT_p
 4- 5+ 55,5 % PIFT

Abbildung 19

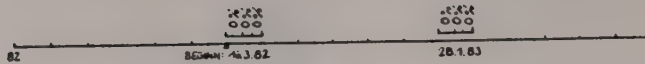
Patient 19: 41 Jahre; m; C M L

Transfusionsübersicht: 6 Monate, insg. 30 Transf.

davon 10 gefilt. EK

Testseren: vom 16.7.82 und 28.1.83

Reaktion: keine



TK
TK 1/2
PRESTO

4		8
		8
4		6

Testreaktionen: 41- 0+ 0,0 % LCT
8- 0+ 0,0 % LCT_p
8- 0+ 0,0 % PIFT

Abbildung 20

5. Diskussion

Aufgrund der vorliegenden Untersuchung können die Ergebnisse anderer Autoren, die meist nur Teilgebiete dieser Untersuchung berücksichtigen, weitgehend bestätigt werden.

Nachfolgend wird auf die erhobenen Befunde im Zusammenhang mit den bisherig publizierten Untersuchungsergebnissen näher eingegangen.

5.1 Antikörpernachweis in Abhängigkeit von Anzahl bzw. Art der Transfusionen

Die Abhängigkeit der Alloimmunisierung von der Anzahl der verabreichten Bluttransfusionen ist auch bei der vorliegenden Patientengruppe erkennbar.

Die ermittelte Tendenz für das gesamte Patientenkollektiv bis auf zwei Extremfälle (Nr. 6 und 17) läßt aber bereits starke Überlagerungen aufgrund individueller Fallunterschiede deutlich werden.

Es gibt Untersuchungen, die bezüglich des Zusammenhangs zwischen Anzahl der Transfusionen und Alloimmunisierung zu unterschiedlichen Ergebnissen kommen (16, 21 und 45).

Allerdings sind in allen drei Arbeiten weder die konkreten Untersuchungsergebnisse dargestellt, noch die jeweiligen Feststellungen näher begründet.

In einer weiteren Arbeit ist eine zusätzliche Unterteilung des gesamten Patientenkollektivs vorgenommen worden. Dabei ist ein echter Zusammenhang zwischen Transfusionsanzahl und Antikörperbildung nur für eine Untergruppe, nämlich für diejenigen Patienten mit nachweisbaren Antikörpern, festgestellt worden (34).

Selbstverständlich gibt es auch in den vier Teilgruppen der vorliegenden Untersuchung mit steigender Anzahl positiver Reaktionen (0 bis 10%; 10 bis 30%; 30 bis 40% und über 40%)

jeweils eine nicht zu vernachlässigende Streuung der Transfusionsanzahlen. Diese Streuung der Einzelwerte ist aber durchaus erklärbar.

Einen wesentlichen Einfluß auf die Antikörperbildung haben nämlich sowohl die Art der Bluttransfusionen als auch die Grundkrankheit der einzelnen Patienten mit der sich daraus ergebenden immunsuppressiven Therapie.

So ließen sich bei zwei Patienten (Nr. 6 und 17) trotz massivster Zelltransfusionen wahrscheinlich aufgrund aggressiver immunsuppressiver Therapie bei bestehender akuter Leukose kaum positive Reaktionen im LCT und im PIFT nachweisen.

In bisherigen Untersuchungen konnte ebenso gezeigt werden, daß der Anteil von Leukozyten und Thrombozyten in gewaschenen und gefilterten Erythrozytenkonzentraten zu gering ist, um eine nachweisbare Sensibilisierung oder Boosterung hervorrufen zu können (39, 51 und 53).

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung lassen ebenfalls eine Unabhängigkeit der positiven Reaktionen von der Gabe gefilterter Erythrozytenkonzentrate erkennen.

Die Ergebnisse der "LCT-Gesamtuntersuchung" lassen zwar einen geringen Zusammenhang zwischen steigender Anzahl von gefilterten Erythrozytenkonzentraten und zunehmender Antikörperbildung deutlich werden. Das dürfte aber wohl mehr durch die parallel gegebenen zusätzlichen Transfusionen, wie normale Erythrozytenkonzentrate und/oder selektive Zelltransfusionen, bedingt sein.

In dem gesamten Patientenkollektiv dieser Untersuchung sind hauptsächlich Patienten enthalten, die zusätzlich zur Gabe gefilterter EK auch noch eine große Anzahl anderer Transfusionen bekommen haben. Dadurch ist eine alleinige Betrachtung der Auswirkungen von gefilterten EK nicht möglich.

Bei mehreren der untersuchten Patienten ist jedoch zu erkennen, daß nach der Verabreichung von gefilterten EK kein Anstieg der Antikörper mehr stattfand (siehe Abb. 2 und 14).

Bei den übrigen elf Patienten dieser Untersuchung, die gefilterte EK erhielten, ist die Situation ähnlich. Allerdings ist bei fünf Patienten davon die Interpretation schwieriger, da nur ein geringer Anteil ihrer insgesamt verabreichten Transfusionen gefilterte EK waren.

Da nach den unter 4.5 dargestellten Untersuchungsergebnissen an Anämie erkrankte Patienten ohne immunsuppressive Therapie mehr Antikörper bilden als an Leukämie erkrankte Patienten, kann die Antikörperbildung nach der Gabe von gefilterten EK nicht eindeutig beurteilt werden.

Die Patientin Nr. 5 mit einer zu behandelnden Anämie, ausgelöst durch ein Plasmozytom, hat nach anfänglicher Gabe von acht EK mit 17% der getesteten Probanden reagiert und nach weiteren zwölf EK mit 82%. Trotz der Gabe von 28 gefilterten EK reagierte sie schließlich beim dritten Test mit 100%, wobei die gleichzeitig verabreichten acht normalen EK zu diesem nochmaligen Anstieg geführt haben könnten (siehe Abb. 6).

Dieser letzte Fall läßt deutlich werden, daß die Antikörperbildung unter vielschichtigen Aspekten zu betrachten ist, so auch unter dem der klinischen Situation des Patienten in bezug auf seinen jeweiligen Immunstatus.

Als besondere Art von Bluttransfusionen ist abschließend noch die Wirkung von Thrombozytentransfusionen zu diskutieren.

Nach bisherigen Veröffentlichungen stellen Thrombozytenkonzentrate von randomisierten Spendern eine potentielle Immunisierungsgefahr dar (1,21, 29 und 51).

Oft enden sogar wiederholte Thrombozytentransfusionen in einem Refraktärstadium, so daß eine strenge Indikationsstellung gefordert wird (34 und 36).

Alle acht Patienten des Gesamtkollektivs, die mit Thrombozyten substituiert wurden, haben als Grundkrankheit eine Leukämie. Infolgedessen erscheint durch ihre immunsuppressive Behandlung die Antikörperbildung herabgesetzt.

Allerdings haben zwei Patienten dieser Gruppe (Nr. 10 und 16) mit einer steigenden Antikörperbildung reagiert, was wiederum durch zusätzliche Transfusionen anderer Art bedingt sein könnte.

Gerade durch die acht Fälle dieser Patientengruppe wird ersichtlich, wie wichtig sowohl der immunologische Status als auch die klinische Situation für eine Transfusionstherapie in Betracht zu ziehen sind.

5.2 Antikörpernachweis in Abhängigkeit von Immunsuppressiva bzw. Krankheitsbildern

Immunsuppressiva haben 12 von den 19 Patienten des Gesamtkollektivs verabreicht bekommen. Diese Patientenuntergruppe zeigt deutlich weniger Antikörperbildungen als die Restgruppe.

Bei den immunsuppressiv behandelten 12 Patienten liefert der LCT ein Drittel weniger vom durchschnittlichen Wert positiver Reaktionen der Restgruppe (18% statt 27%) und der PIFT kann sogar fast die Hälfte weniger nachweisen (28% statt 54%).

Dieser erhebliche Unterschied dürfte durch eine Hemmung der Antikörperbildung bei der Gabe von Immunsuppressiva zu erklären sein (1 und 67).

In einer Untersuchung wurde allerdings festgestellt, daß trotz immunsuppressiver Behandlung der untersuchten Patienten ein hoher Prozentsatz davon nachweisbare Antikörper hatte (45).

Das ist auch in dieser Untersuchung der Fall, denn von den 19 Patienten sind bei 17 Antikörper nachgewiesen worden, obwohl 12 der Patienten mit Immunsuppressiva behandelt worden sind, wovon nur 2 Patienten gar keine positiven Reaktionen aufgezeigt haben.

Durch den Untersuchungsansatz dieser Arbeit konnte aber eben ein erheblicher Unterschied zwischen den mit Immunsuppressiva behandelten Patienten und der Restgruppe nachgewiesen werden.

Die Unterdrückung der Antikörperbildung durch Immunsuppressiva ist bei der mit dieser Therapie behandelten Patienten-Gruppe damit deutlich geworden.

Da die an Leukämie erkrankten Patienten fast ausschließlich mit Immunsuppressiva behandelt worden sind, wird verständlich,

daß die Patienten mit diesem Krankheitsbild im Durchschnitt nur halb so viele Antikörper gebildet haben wie die 7, die an Anämie erkrankt waren (siehe 4.5, Tab. 8).

Beide Testverfahren liefern fast gleiche Verhältniswerte, nämlich mit dem LCT 13% gegenüber 26% und mit dem PIFT 21% gegenüber 53%.

Die den Patienten zu verabreichenden Arten von Transfusionen waren je nach der Grundkrankheit unterschiedlich.

Die immunsuppressiv behandelten Leukämie-Patienten sind zum Beispiel mehr auf selektive Zelltransfusionen, wie Thrombozytenkonzentrate, angewiesen durch den knochenmarkshemmenden Effekt der Therapie. Es ist bekannt, daß Patienten, die zusätzlich Thrombozyten- oder Granulozytenkonzentrate von randomisierten Spendern erhalten, besonders sensibilisierungsgefährdet sind (51).

In der vorliegenden Untersuchung haben 8 der 9 an Leukämie erkrankten Patienten neben anderen Transfusionen auch Thrombozytenkonzentrate erhalten. Trotzdem entwickelten 6 dieser 8 Patienten kaum nachweisbare Antikörper. Dieser scheinbare Widerspruch ist sehr wahrscheinlich auf die "Nebenwirkung" der ihnen gleichzeitig verabreichten immunsuppressiven Therapie zurückzuführen.

Aufgrund dieses Untersuchungsbefundes kann die bisher überwiegend geübte Praxis, derartige Patienten zunächst mit aus drei bis sechs Spendern gepoolten Thrombozytenkonzentraten zu substituieren, als gerechtfertigt bestätigt werden.

Bei Resistenzentwicklung muß dann auf crossmatch-negative Transfusionen übergegangen werden.

In einigen älteren Veröffentlichungen wird die Meinung vertreten, daß bei langzeitsubstituierten Patienten von vornherein eine HLA-kompatible Thrombozytensubstitution angebracht ist (34, 36, 37, 40 und 49).

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse mit ihren Folgerungen werden dagegen durch neuere Veröffentlichungen bestätigt (41 und 50).

Danach sollten Patienten mit Thrombozytopenie gepoolte Thrombozytenkonzentrate von randomisierten Spendern als anfängliche Therapie erhalten. Erst bei Übergang zu einem Refraktärstadium sollte auf crossmatch-negative Spender übergegangen werden (50).

Aufgrund der vorliegenden Untersuchungsergebnisse muß für Patienten mit Anämie, im besonderen mit aplastischer Anämie, eine wichtige und allseits zu berücksichtigende Maßnahme gefordert werden.

Bei diesen Patienten muß die zu Beginn der Erkrankung notwendige Erythrozytensubstitution ausschließlich mit leukozyten- und thrombozytenarmen gefilterten Erythrozytenkonzentraten erfolgen, um im späteren Verlauf der Erkrankung oder bei dem heute üblichen Behandlungsschemata mit Antithymozytenglobulin bei nachfolgenden Thrombopenien mit Thrombozytentransfusionen erfolgreich substituieren zu können. So kann eine Immunisierung gegen HLA-Antigene im Verlauf der Erythrozytensubstitution weitgehend vermieden werden.

5.3 Vergleich und Bedeutung der verwendeten Tests

Als Antikörpersuchverfahren (screening) hat sich der LCT in bezug auf HLA-Antikörper durchaus bewährt (17, 21, 29, 37, 45, 51, 53, 55 und 63).

Die vorliegenden Ergebnisse sind weitgehend in Übereinstimmung mit den bisherigen Untersuchungsergebnissen.

Allerdings liefert der zusätzlich angewendete PIFT eine Erweiterung von nachweisbaren Antikörpern (siehe 4.1, Tab. 4). Das ist durchaus erklärbar, da mit Hilfe des PIFT sowohl HLA-Antikörper als auch thrombospezifische Antikörper nachweisbar sind (45 und 63).

Für einen Nachweis von durch Alloimmunisierung erzeugten Antikörpern ist die Kombination dieser beiden Testverfahren also ein durchaus hinreichendes Antikörpersuchverfahren.

In mehreren Untersuchungen ist dieselbe Kombination ebenfalls erfolgreich angewendet worden (5, 45, 52, 55 und 63).

Als Einzeltests angewendet, ist der PIFT sensibler als der LCT (siehe 4.6, Tab. 11).

Die hochsignifikante Gleichwertigkeit beider Einzeltests kommt zum Ausdruck durch eine hohe Übereinstimmung gleich positiver und gleich negativer Reaktionen der Patientenserum mit den jeweiligen getesteten Probanden (13% und 54%, also zusammen in 67% der 200 parallel durchgeführten Kreuzproben).

Trotzdem konnten mit Hilfe des PIFT tatsächlich 25% mehr an positiven Reaktionen nachgewiesen werden.

Das ist aufgrund von zusätzlich nachweisbaren thrombozytenspezifischen Antikörpern unter Umständen von besonderem Interesse.

Die 8% der vom LCT nachgewiesenen positiven Reaktionen, die der PIFT nicht als positiv erfaßt hat, lassen sich damit erklären, daß die HLA-Antigene B 8 und 12 nicht auf Thrombo-

zyten ausgeprägt sind, sowie wahrscheinlich auch der C- und D-Locus (37).

Beim Antikörperscreening von Patienten mit einer ausgedehnten Transfusionsanamnese lassen sich mit dem LCT alleine nur 46% der mit der Kombination aus LCT und PIFT nachgewiesenen Antikörper erkennen (siehe 4.6, Tab. 11).

Die mit Hilfe des PIFT erfaßbaren Antikörper, die mit Hilfe des LCT nicht zu ermitteln sind, erklären den in der Literatur beschriebenen fehlenden Thrombozytenanstieg nach LCT-negativem crossmatch zwischen Patientenserum und Spenderlymphozyten (5, 26 und 30).

Bei negativem LCT läßt sich nur in 70% der Fälle im Gegensatz zu 73% bei zusätzlichem negativen PIFT ($p < 0,05$) ein erfolgreicher Thrombozytenanstieg nach Transfusion vorhersagen (29).

Bezüglich einer prognostischen Bedeutung der beiden Testverfahren gibt es Untersuchungsergebnisse, die durchaus dafür sprechen (5, 21, 29 und 63), und nur zwei, die sie nicht bestätigen können (8 und 49).

Für die Transfusionspraxis erscheint in der Regel nur der LCT im Routinebetrieb regelmäßig durchführbar, da der PIFT von geschultem Personal mit zusätzlicher Ausrüstung (z.B. Fluoreszenzmikroskop) durchgeführt werden muß.

Der zusätzliche Aufwand für den PIFT erscheint daher nur sinnvoll bei Patienten mit häufig auftretenden schweren Transfusionsreaktionen und fehlendem Thrombozytenanstieg in klinischer Situation.

In der vorliegenden Untersuchung hatten nur zwei der 19 Patienten fibrile Transfusionsreaktionen (Nr. 7 und 16).

Der zusätzliche Aufwand für einen auch im Routinebetrieb bedeutsamen Einsatz des PIFT ist zum Beispiel beim Patient Nr. 7 besonders klar erkennbar. Der Patient erhielt im Verlauf von drei Monaten insgesamt 68 Transfusionen. Die fibrile Transfusionsreaktion stellte sich in der Mitte dieser Periode ein.

Die Untersuchung seiner Testseren ergab sowohl direkt vorher als auch einen Monat später mit Hilfe des PIFT stark positive Reaktionen mit den getesteten Probanden (100% und 50%) im Unterschied zum LCT mit sehr geringen positiven Reaktionen (6% und 0%).

6. Zusammenfassung

Von 19 polytransfunden Patienten, die insgesamt 1651 Transfusionen ($\Sigma=87$) über einen durchschnittlichen Zeitraum von 18 Monaten erhielten, wurden mindestens jeweils 3 Serenstichproben untersucht. Und zwar wurden mit Hilfe des LCT 1073 Kreuzproben gegen 27 Probanden durchgeführt. Außerdem wurde bei allen Patienten gegen 10 Probanden mit 200 Kreuzproben des LCT eine Paralleluntersuchung mit dem PIFT durchgeführt.

Der LCT lieferte für 17 der 19 Patienten (89%) positive Reaktionen. Als Gesamtdurchschnitt aller individuellen Durchschnittswerte ergab der LCT 21% und der PIFT 31%.

Die Gleichwertigkeit beider Testverfahren ist bei 67% gleichartiger Testergebnisse hochsignifikant ($p \leq 0,001$). Dabei liefert der PIFT 25% mehr positive Reaktionen.

Eine Abhängigkeit zwischen Transfusionsfrequenz und Alloimmunisierung ist als statistische Tendenz erkennbar.

Die Art der Transfusionen konnte als entscheidender Einfluß auf die Alloimmunisierung nachgewiesen werden, wonach z.B. die Gabe von leukozyten- und thrombozytenarmen gefilterten EK einen weiteren Antikörperanstieg verhinderte.

Hinsichtlich der Beeinflussung der Grundkrankheit und der damit bedingten Therapie auf die Alloimmunisierung konnte ein deutlicher Unterschied zwischen Leukämie- und Anämie-Patienten gezeigt werden. Im Durchschnitt konnten bei den Leukämie-Patienten halb soviel Antikörper nachgewiesen werden wie bei den Anämie-Patienten.

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse lassen insgesamt deutlich werden, daß aufgrund der komplexen und verflochtenen Verhältnisse von klinischer Situation und immunologischem Status jeder einzelne Patient ganz individuell unter den verschiedenen herausgearbeiteten Aspekten zu analysieren ist, um zu einer optimalen Transfusionstherapie zu gelangen.

7. Literaturverzeichnis

- 1 BEGEMANN, H.:
Praktische Hämatologie
Georg Thieme Verlag Stuttgart - New York
1982⁸
- 2 BEHRING (-renk)
Nomenklatur des HLA-Systems
In: Diagnostik Information 3/84 (24)
Frankfurt am Main
1984
- 3 BLUMENBERG, N.; HEAL, J. and MASEL, D.:
A new hypothesis concerning the mechanisms of
refractoriness to platelet transfusion
In: Transfusion Vol. 25 No 5, S. 459 (Abstract)
1985
- 4 BORNE, A.E.G. Kr von dem, VERHEUGT, F.W.A., OOSTERHOF,
F., RIESZ, L.E. von, BRUTEL de la RIVIERE, A. and
ENGELFRIET, C.P.:
A simple immunfluorescenc test for the detection of
platelet antibodies.
In: Brit. J. Haemat. 39, S. 195 - 207
1978
- 5 BRAND, A., LEEUWEN, A. van, EERNISSE, J.G. and
ROOD, J.J. van:
Platelet transfusion therapy.
Optimal donor selection with a combination of lympho-
cytotoxicity and platelet fluorescenc test.
In: Blood 51, S. 781 - 788
1978
- 6 BRAND, A.:
Platelet - supportive care.
In: Thesis, Leyden, The Netherlands
1979

- 7 BUCHER, U., de WECK, A., SPENGLER, H., TSCHOPP, L.
and KUMMER, H.:
Platelet transfusions: Shortened survival of HLA-
identical platelets and failure of in vitro detec-
tion of anti-platelet antibodies after multiple
transfusions.
In: Vox Sang. 25, S. 187 - 192
1973
- 8 COOK, L.O. and MILLER, W.V.:
In vitro tests for platelet compatibility.
In: Vox Sang. 40, S. 247 - 252
1981
- 9 DAHLKE, M.B. and WEISS, K.L.:
Platelet transfusion from donors mismatched for
crossreactive HLA antigens
In: Transfusion Vol. 24 No 4
1984
- 10 DALY, P.A., SCHIFFER, C.A., AISNER, J. and
WIERNIK, P.H.:
Platelet transfusion therapy.
In: JAMA, Vol. 243, No 5 (February), S. 435 - 438
1980
- 11 DIETZFELBINGER, H.; WOITINAS, F.:
Substitutive und prospektive Therapie
mit Blutkomponenten
In: Med. Klin. 74, S. 680 - 685
1979
- 12 DIXON, R., ROSSE, W. and EBBERT, C.:
Quantitative determination of antibody in Idiopathic
thrombocytopenic purpura: "Correlation of serum and
platelet-bound antibody with clinical response."
In: New Engl. J. Med. 292, 230
1975

- 13 DUKE, W.W.:
Relation of blood platelets to hemorrhagic disease.
Description of a method for determining bleeding
time and coagulation time and report of three cases
of hemorrhagic disease relieved by transfusion.
In: J. Amer. med. Ass. 55, 1185
1910
- 14 DUQUESNOY, R.J., PHILIP, D.J., TOMASALO, P.A. and
ASTER, R.H.:
Role of HLA-C matching in histocompatible platelet
transfusion therapy of alloimmunized thrombocytopenic
patients.
In: Transplant. Proc. 9, 1827
1977
- 15 DUQUESNOY, R.J.:
Donor selection in platelet transfusions therapy of
alloimmunized thrombocytopenic patients.
In: Jamieson G.A., Greenwalt T.J., eds.
The blood platelet in transfusion therapy.
New York: Alan R. Liss, 229 - 43
1978
- 16 DUTCHER, J.D.; SCHIFFER, C.A.; AISNER, J. and
WIERNIK, P.H.:
Alloimmunization following platelet transfusion:
The absence of a doseresponse relationship.
In: Blod 57, S. 395 - 398
1981
- 17 ENGELFRIET, C.P., PEGELS, J.G. und BORNE, A.E.G.
Kr. von dem:
HLA und Bluttransfusion.
In: MATTHES, M. und NAGEL, V. (Schriftleiter)
Forschungsergebnisse der Transfusionsmedizin und
Immunhaematologie, Band 7, Teil II, S. 835 - 855
1980

- 18 FILIP, D.J., SCHEUERMAN, K., DUQUESNOY, R.J.
and ASTER, R.H.:
The predicative value of cross-matching procedures
for the selection of histocompatible platelet donors.
In: Blood 46, 1056
1975
- 19 FISCHER, M.; CHAPMAN, J.R.; TING, A. and MORRIS, P.J.:
Alloimmunization to HLA Antigens following
Transfusion with Leucocyte-Poor and Purified
Platelet Suspensions
In: Vox Sang 49, S. 331 - 335
1985
- 20 FORD, J.M., et al:
Combined Granulocyte and Platelet Transfusions:
Inter-Relationship between Granulocyte and Platelet
Recoveries in the Presence and Absence of Complicating
Faktors
In: Scand J. Haematol 32, S. 65 - 75
1984
- 21 FREEDMAN, J., HOOI, C. and GARVEY, M.B.:
Prospective platelet crossmatching for selection of
compatible random donors.
In: Brit. J. of Haemat. 56, S. 9 - 18
1984
- 22 GRUMET, F.C. und YANKEE, R.A.:
Longterm platelet support of patients with aplastic
anaemia.
In: Ann. intern. Med. 73, S. 1 - 7
1970
- 23 HÄSSIG, A.:
When is the microfiltration of whole blood and red
cell concentrates essential? When is it superfluous?
In: Vox Sang 50, S. 54 - 64
1986

- 24 HEINRICH, D., MUELLER-ECKHARDT, C. und STIER, W.:
The specificity of leukocyte and platelet alloantibodies in sera of patients with non-haemolytic transfusion reactions.
Absorption and elution studies.
In: Vox Sang. 25, S. 442
1973
- 25 HERZIG, R.H., HERZIG, G.P., BULL, M.I., DECTER, J.A.,
LOHRMANN, H.-P., STOUT, F.G., YANKEE, R.A. and
GRAW, JR.R.G.:
Correction of poor platelet transfusion responses with
leukocyte-poor HLA-matched platelet concentrates.
In: Blood 46, S. 743 - 750
1975
- 26 HERZIG, R.H.; TERASAKI, P.T.; TRAPANI, R.J.;
HERZIG, G.B. and GRAW, R.G.Jr.:
The relationship between donor-recipient lymphocytotoxicity and the transfusion response using HLA-matched platelet concentrates
In: Transfusion 17, S. 657 - 661
1977
- 27 HEYNS, A. du P.; BADENHORST, P.N.; LÖTTER, M.G.;
PIETERS, H.; WESSELS, P. and KOTZE, H.F.:
Platelet turnover and kinetics in immune thrombocytopenic purpura: Results with autologous ¹¹¹In-labeled platelets and homologous ⁵¹Cr-labeled platelets differ
In: Blood Vol. 67 No 1 (Jan), S. 86 - 92
1986
- 28 HOGGE, D.E.; DUTSCHER, J.P.; AISNER, J. and
SCHIFFER, C.A.:
The ineffectiveness of random donor platelet transfusion in splenectomized alloimmunized recipients
In: Blood Vol. 64 No 1 (July)
1984

- 29 KAKAIJA, R.M.; GUDINO, M.D.; MILLER, W.V.;
SHERMAN, L.A.; KATZ, A.J.; WAKEM, C.J.; KRUGMAN, D.J.;
KLATSKY, A.U. and KIRALY, T.R.:
Four crossmatch methods to select platelet donors
In: Transfusion Vol. 24 No 1
1984
- 30 KICKLER, T.S.; BRAINE, H.G.; NESS, P.M.; KOESTER, A.
and BIAS, W.:
A radiolabeled antiglobulin test for crossmatching
platelet transfusions
In: Blood Vol. 61, S. 238 - 242
1983
- 31 KICKLER, T.S.; BRAINE, H.G. and NESS, P.M.:
The predictive value crossmatching platelet trans-
fusion for alloimmunized patients
In: Transfusion Vol. 25 No 4
1985
- 32 KRETSCHMER, V.; GRODIG, D.; NAGEL, H.J.; WALLON, I.;
MUELLER-ECKHARDT, G.; GRABNER, M. und MUELLER-
ECKHARDT, C.:
Nachweisbarkeit und Bedeutung von Alloimmunisierung
gegen Leukozytenantigene bei Empfängern von Granulo-
zytentransfusionen
In: Forschungsergebnisse der Transfusionsmedizin und
Immunhaematologie Band 7 Teil I
1980
- 33 KUTTI, J.; ZAROULIS, C.G.; DINSMORE, R.E.; REICH, L.;
CLARKSON, B.D. and GOOD, R.A.:
A prospective study of platelet-transfusion therapy
administered to patients with acute leukemia
In: Transfusion Vol. 22 No 1
1982

- 34 MALCHUS, R. und HOPPE, I.:
HLA-serologische Diagnostik bei Langzeittherapie mit
Thrombozytenkonzentraten
In: Forschungsergebnisse der Transfusionsmedizin und
Immunhaematologie Band 7 Teil I, S. 317 - 322
1980
- 35 MAYR, W.R.:
Leukozyten- und Thrombozytengruppen.
In: Wissenschaftliche Tabellen Geigy,
Teilband Hämatologie und Humangenetik, S. 234 - 238
Basel
1979⁸
- 36 MAYR, W.R.:
Die klinische Bedeutung der Leukozytenalloantigene.
In: Wissenschaft und Fortbildung, Lab. med. 4,
S. 193 - 197
1980
- 37 MUELLER-ECKHARDT, C.:
Histokompatibilität und Thrombozytentransfusion.
In: Blut, Band 34 - Heft 4, S. 261 - 270
1977
- 38 MUELLER-ECKHARDT, G.; BREIDENBACH, M.; MAHN, I. und
MUELLER-ECKHARDT, C.:
HLA und Thrombozytenüberlebenszeit (TÜZ)
In: Forschungsergebnisse der Transfusionsmedizin und
Immunhaematologie Band 7 Teil II, S. 832
1980
- 39 MÜLLER, N. und DANCKWORTH, H.-P.:
Leukozytenerme Blutkonserven: Effektivität der auto-
matischen Filtration mit Cellulose-Acetatfilter
(Prestomat^R)
In: Forschungsergebnisse der Transfusionsmedizin und
Immunhaematologie Band 7 Teil II, S. 447 - 453
1980

- 40 MÜLLER, V.:
Zur Indikation der Therapie nach Maß mit
HLA-kompatiblen Blutzellen.
In: Forschungsergebnisse der Transfusionsmedizin und
Immunhaematologie Band 7 Teil II, S. 447 - 453
1980
- 41 MURPHY, M.F. and WATERS, A.H.:
Annotation
Immunological aspects of platelet transfusions
In: British Journal of Haematology, Vol. 60;
pp 409 - 414
1985
- 42 MURPHY, E.A.:
Logical issues in interpreting studies in platelet
survival
In: Transfusion Vol. 26 No 1, pp 22 - 25
1986
- 43 OBERMAN, H.A.; BARNES, B.A. and STEINER, E.A.:
Role of the crossmatching in testing for serologic
incompatibility
In: Transfusion Vol. 22 No 1, pp 12 - 16
1982
- 44 OPELZ, G., SENGAR, D.P.S., MICKEY, R.S. and
TERASAKI, P.I.:
Effect of blood transfusion on subsequent kidney
transplants.
In: Transplant. Proc. 5, S. 253
1973
- 45 PEGELS, J.G., BRUYNES, E.C.E., ENGELFRIET, C.P.
and BORNE, A.E.G.KR. von dem:
Serological studies in patients on platelet- and
granulocyte-substitution therapy.
In: Brit. J. of Haemat. 52, S. 59 - 68
1982

- 46 PERSIJN, G.G., HOOFF, J.P. von, KALF, M.W.,
LANSBERGEN, G. and ROOD, J.J. van:
Effect of blood transfusion and HLA-matching on
renal transplantation in the Netherlands.
In: Transplant. Proc. 9, S. 503
1977
- 47 RAY, J.G.:
NIH lymphocyte microcytotoxicity technique
In: NIAID manual of tissue typing techniques DHEW
publication number (NIH) 77 - 545.
Department of Health Education and Welfare
Publistus, Bethesda, P⁴²
1977
- 48 RIE, de M.A.; PLAS-VAN-DALEN, van der C.M.;
ENGELFRIET, C.P. and BORNE, von dem A.E.G.Kr.:
The Serology of febrile transfusion reactions
In: Vox Sang. 49, pp 126 - 134
1985
- 49 RINGENBERG, C.; WILLEMS, I.; FÖRSTER, C.; HORN, G.;
MUELLER-ECKARDT, G.; KAYSER, W.; GRAUBNER, M. und
MUELLER-ECKARDT, C.:
Klinische und serologische Untersuchungen von
Thrombozytentransfusionen.
In: Forschungsergebnisse der Transfusionsmedizin und
Immunhaematologie Band 8 Teil I, S. 259 - 267
1982
- 50 SCHIFFER, C.A. and SLICHTER, S.J.:
Sounding Board
Platelet transfusions from singl donors
In: The New England Journal of Medicine Vol. 307 No 4,
pp 245 - 247
1982

- 51 SCHNEIDER, W.; SCHNAIDT, M.; SCHUNTER, F.;
LINK, H.; WILMS, K. und MIETHAMMER, D.:
Sensibilisierungsprophylaxe bei hämatopoetischen System-
erkrankungen mit thrombo-leukoarmen Erythrozytensedi-
menten
In: Forschungsergebnisse der Transfusionsmedizin und
Immunhaematologie Band 7 Teil II, S. 437 - 445
1980
- 52 SCHNEIDER, W. und SCHNAIDT, M.:
Der Thrombozyten-Adhäsion-Immunfluoreszenz-Test (TAIFT)
In: Forschungsergebnisse der Transfusionsmedizin und
Immunhaematologie Band 8 Teil I, S. 247 - 252
1982
- 53 SCHNEIDER, W.; SCHNAIDT, M.; SCHUNTER, F.; SUGG, U.;
und KLEMENT, H.:
Blutkomponententherapie und Sensibilisierungsrate im
HLA-System bei Patienten mit Erkrankungen der Hämatopo-
ese
In: Forschungsergebnisse der Transfusionsmedizin und
Immunhaematologie Band 8 Teil I, S. 365 - 374
- 54 SCORNIK, J.C.; IRELAND, J.E.; HOWARD, R.J. and
PFAFF, W.W.:
Assesment of the risk for broad sensitization by blood
transfusions
In: Transplantation Vol. 37 No 3, pp 249 - 253
1984
- 55 SEHRBUNDT, M. und KRÜGER, J.:
Immunfluoreszenz-Antikörpersuchtest mit stabilisierten
Lymphozyten und Thrombozyten
In: Forschungsergebnisse der Transfusionsmedizin und
Immunhaematologie Band 7 Teil I, S. 393 - 398
1980

- 56 SHAW, G.M., AXELSON, J., MAGLOTT, J.G., and LOBUGLIO, A.F.:
Quantification of platelet-bound IgG by ^{125}I -staphylococcal protein A in immune thrombocytopenic purpura and other thrombocytopenic disorders.
In: Blood Vol. 63 No 1 (January), S. 154 - 161
1984
- 57 SHULMAN, N.R., MARDER, V.J., HILLER, M.C. and COLLIER, E.M.:
Platelet and leucocyte iso-antigens and their antibodies: Serologie, physiologic and clinical studies.
In: Progress in Hematology, Vol. 4 (eds.: Moore, C.V. and Brown, E.B.), Grune and Stratton, New York, p 222
1964
- 58 SLICHTER, S.J.:
Indications for platelet transfusions
In: Plasma Ther Transfus Technol Vol. 3, pp 259 - 264
1982
- 59 TERASAKI, P. and CLELLAND, Mc D.J.:
Microdroplet assay of human serum cytotoxins
In: Munksgaard, Copenhagen
1970
- 60 TERASAKI, P.:
Histocompatibility testing
In: Munksgaard, Copenhagen
1970
- 61 VERHEUGT, F.W.A., BORNE, A.E.G.Kr.v.d., NOORD-BOKHORST, J.C. van and ENGELFRIET, C.P.:
Autoimmune granulocytopenia: the detection of granulocyte autoantibodies with the immunfluorescenc test.
In: Brit. J. Haemat. 39, S. 339
1978

- 62 WARE, R.; REISNER, E.G. and ROSSE, W.F.:
The use of radiolabeled and fluorescein-labeled anti-
globulins in assays to predict platelet transfusion
outcome
In: Blood Vol. 63 No 5, pp 1245 - 1248
1984
- 63 WATERS, A.H., MINCHINTON, R.M., BELL, R.,
FORD, J.M. and LISTER, T.A.:
A cross-matching procedure for the selection of
platelet donors for alloimmunized patients.
In: Brit. J. of Haemat. 48, S. 59 - 68
1981
- 64 WU, K.K.; HOAK, J.C.; THOMPSON, J.S. and KOEPKE, J.A.:
Use of platelet aggregometry in selection of compa-
tible platelet donors
In: New Engl. J. Med. 292, pp 130 - 133
1975
- 65 WU, K.K.; HOAK, J.C.; KOEPKE, J.A. and THOMPSON, J.S.:
Selection of compatible platelet donors in a prospec-
tive evaluation of three crossmatching techniques
In: Transfusion Vol. 17, pp 638 - 643
1977
- 66 YANKEE, R.A., GRUMET, F.C. und ROSENTINE, G.N.:
Platelet transfusion therapie.
In: New Engl. J. Med. 281, S. 1208
1969
- 67 YANKEE, R.A.:
HLA antigene and platelet therapy.
In: Platelets-Production, Function, Transfusion and
Storage (Baldini M.G. and Ebbe S. Ed.),
Grune and Stratton, New York - San Francisco - London,
p 313
1974

DANKSAGUNG

Hiermit möchte ich allen, die mich bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützt haben, meinen Dank aussprechen:

Herrn Professor Dr. med. Wolfgang Mempel für die Überlassung des interessanten Themas,

Herrn Dr. med. Marcel Heim für die engagierte Betreuung und die wertvollen Ratschläge bei der Durchführung der Versuche und der Verfassung des Textes,

den Mitarbeitern des Transfusionszentrums der Ludwig-Maximilians-Universität BSD-BRK für die praktische Anleitung bei den Versuchen,

sowie allen, die mit ihrer Blutspende diese Arbeit ermöglicht haben.

8. Lebenslauf

Am 04. 04. 1959 kam ich als Tochter des Dr. phil.
Hans Specht und seiner Ehefrau Margarete, geb.
Grönig, in Göttingen zur Welt.

1966 - 1969	Grundschule in Felde bei Kiel
1969 - 1970	Grundschule in Pöcking
1970 - 1979	Mathematisch-naturwissenschaftliches Gymnasium in Starnberg
1979	Kollegstufen-Abitur
1979 - 1980	Diakonisches Jahr in Selbitz bei Hof
1980 - 1981	Studium der Medizin an der Universität Erlangen-Nürnberg
1981 - 1986	Studium der Medizin an der Ludwig- Maximilians-Universität München
1984	Famulatur am Guy's Hospital in Lodon und am St. Vincents Hospital in Dublin
1986 - 1987	Praktisches Jahr im Rahmen der AO: - Klinikum Großhadern: Interne Medizin - Städtisches Krankenhaus Landshut: Chirurgie - Haunersches Kinderspital: Pädiatrie
1. Juli 1987	Approbation
28. 08. 1987	Vermählung mit Günter Riedner
01. 10. 1987	Beginn der wissenschaftlichen Tätigkeit im Transfusionszentrum Med III / BSD - BRK Klinikum Großhadern

